

5139 / 176 / H / 93 ✓

# **TUGAS AKHIR**

**STUDI MENGENAI TOKSISITAS BEBERAPA LOGAM BERAT  
TERHADAP LINGKUNGAN BIOTIK  
DENGAN MENGGUNAKAN YEAST**



629.160-61

1000.

**Disusun oleh :**

**Arthika Dusparini**

**3873300108**

**PROGRAM STUDI TEKNIK LINGKUNGAN  
FAKULTAS TEKNIK SIPIL DAN PERENCANAAN  
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER  
SURABAYA  
1992**



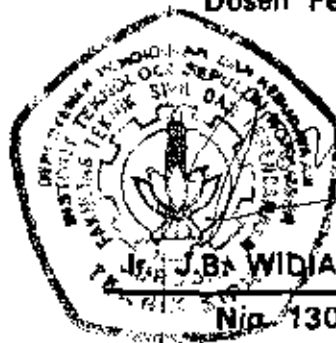
**MILIK PERPUSTAKAAN  
INSTITUT TEKNOLOGI  
SEPULUH - NOPEMBER**

# TUGAS AKHIR

STUDI MENGENAI TOKSISITAS BEBERAPA LOGAM BERAT  
TERHADAP LINGKUNGAN BIOTIK  
DENGAN MENGGUNAKAN YEAST

Mengetahui / Menyetujui

Dosen Pembimbing



J.B. WIDIADI M.Eng. Sc.

Nip. 130 520 317

PER. DES. KAMAM	
1305	
Tgl. Pengantar	24 NOV 1992
Tgl. Pengantar	4
Tgl. Pengantar	456 / TA

PROGRAM STUDI TEKNIK LINGKUNGAN  
FAKULTAS TEKNIK SIPIL DAN PERENCANAAN  
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER  
SURABAYA  
1992

## ABSTRAK

Meningkatnya akumulasi logam berat karena meningkatnya kegiatan manusia di bidang industri, pertanian, pertambangan, dan lain-lain menyebabkan meningkatnya akumulasi logam berat di lingkungan. Akumulasi logam berat yang melebihi siklus biogeokimia lingkungan akan berpengaruh terhadap kehidupan di dalam lingkungan. Pada umumnya logam berat dikenal karena sifat toksiknya terhadap mikroorganisme. Dengan meningkatnya akumulasi logam di lingkungan maka perlu diketahui lebih lanjut mengenai tingkat toksisitas logam berat tersebut pada mikroorganisme.

Tingkat atau pengaruh toksisitas logam berat terhadap mikroorganisme dapat diketahui dengan pendekatan ekotoksikologi. Ekotoksikologi adalah suatu studi mengenai pengaruh bahan kimia yang terpapar pada suatu sistem biotik dan berkaitan dengan prinsip-prinsip ekologi. Uji ekotoksikologi yang dilakukan untuk meneliti pengaruh suatu bahan kimia pada sistem biotik perlu diperhatikan mengenai habitat di mana sistem biotik tinggal, dan tingkat organisasi sistem biotik tersebut. Karena pengaruh bahan kimia yang terpapar pada sistem biotik berbeda-beda tergantung pada tingkatan organisme sistem biotik. Tingkat toksisitas logam berat terhadap sistem biotik umumnya dinyatakan sebagai EC50.

Pemilihan *Saccharomyces cerevisiae* sebagai sistem biotik yang akan diuji disebabkan karena organisme tersebut merupakan organisme heterotrof, proses respirasinya dapat diamati dengan peralatan sederhana, dan organisme tersebut banyak dipakai di dalam uji bioteknologi.

Uji toksikologi yang dilakukan pada beberapa logam berat seperti Cd, Hg, Cu, Zn, dan Pb menunjukkan bahwa logam-logam tersebut bersifat toksik terhadap *S. cerevisiae*. Tingkat toksisitas logam berat tersebut terhadap *S. cerevisiae* (waktu paparan adalah 3 dan 5 jam) adalah sebagai berikut: Cd, Hg, Pb, Zn dan Cu.

Uji yang dilakukan pada limbah pengolahan kertas terhadap *S. cerevisiae* menunjukkan bahwa pengaruh limbah terletak pada sifat pH limbah tersebut, karena komposisi limbah tidak mempengaruhi sintesa (metabolisme) di dalam sel *S. cerevisiae*.

Penelitian yang lebih lanjut di dalam bidang ekotoksikologi akan menambah wawasan mengenai proses metabolisme yang terjadi di dalam sel karena pengaruh logam berat dan mengenai organisme yang resisten terhadap toksisitas logam berat. Hal ini dapat dimanfaatkan untuk proses pengolahan limbah industri, pertambangan, pertanian, untuk studi AMDAL.

## KATA PENGANTAR

الحمد لله, Segala puji bagi Allah, akhirnya penyusunan laporan tugas akhir kami yang berjudul "Studi Mengenai Toksisitas Logam Berat Terhadap Lingkungan Biotik Dengan Menggunakan Yeast" dapat selesai pada waktunya. Semoga tugas akhir ini banyak memberi manfaat bagi penyusun dan pembaca, khususnya mahasiswa Teknik Lingkungan ITS.

Kami menyadari bahwa di dalam penyusunan tugas akhir ini mungkin terdapat kekurangan, oleh karena itu kami mengharapkan masukan dan saran demi kesempurnaan penyusunan tugas akhir ini.

Di dalam penyusunan laporan tugas akhir ini, banyak pihak yang telah terlibat dan membantu terselesaikannya laporan ini. Oleh karena, penyusun menghaturkan banyak terima kasih kepada:

1. Bapak Ir. J.B. Widiadi M.Eng.Sc., selaku dosen pembimbing.
2. Bapak Ir. M. Razif, selaku dosen wali.
3. Bapak Dr.Ir. Wahyono Hadi MSc., selaku Kepala Program Studi Teknik Lingkungan ITS.
4. Ibu Ir. Nieke Karnaningrum, selaku Sekretaris Program Studi Teknik Lingkungan ITS.
5. Bapak Ir. Sarwoko M.Sc., selaku koordinator TA Program Studi Teknik Lingkungan ITS.

6. Bapak dan Ibu dosen pengajar di Program Studi Teknik Lingkungan ITS.
7. Keluarga tercinta.
8. Teman-teman (khususnya TL'87).
9. Para laboran dan pihak-pihak lainnya yang tidak dapat kami sebutkan satu persatu.

Surabaya, Oktober 1992

Penyusun

Grafik 4.24 Pengaruh $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ pada pertumbuhan	IV-40
Grafik 4.25 Konsentrasi $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ vs pertumbuhan	IV-41
Grafik 4.26 % penurunan pertumbuhan vs konsentrasi $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$	IV-41
Grafik 4.27 Pengaruh $\text{ZnSO}_4$ pada pertumbuhan	IV-42
Grafik 4.28 Konsentrasi $\text{ZnSO}_4$ vs pertumbuhan	IV-43
Grafik 4.29 % penurunan pertumbuhan vs konsentrasi $\text{ZnSO}_4$	IV-43
Grafik 4.30 Pengaruh $\text{CuCl}_2$ pada pertumbuhan	IV-45
Grafik 4.31 Konsentrasi $\text{CuCl}_2$ vs pertumbuhan	IV-46
Grafik 4.32 % penurunan pertumbuhan vs konsentrasi $\text{CuCl}_2$	IV-46
Grafik 4.33 Pengaruh limbah kertas pada pertumbuhan	IV-47
Grafik 4.34 Konsentrasi limbah kertas vs pertumbuhan	IV-47

## DAFTAR GRAFIK

Grafik 4.1	Pengaruh $\text{CdSO}_4$ pada $\text{CO}_2$	IV- 7
Grafik 4.2	Konsentrasi $\text{CdSO}_4$ vs $\text{CO}_2$	IV- 9
Grafik 4.3	% penurunan $\text{CO}_2$ vs konsentrasi $\text{CdSO}_4$	IV- 9
Grafik 4.4	Pengaruh $\text{HgCl}_2$ pada $\text{CO}_2$	IV-11
Grafik 4.5	Konsentrasi $\text{HgCl}_2$ vs $\text{CO}_2$	IV-12
Grafik 4.6	% penurunan $\text{CO}_2$ vs konsentrasi $\text{HgCl}_2$	IV-12
Grafik 4.7	Pengaruh $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ pada $\text{CO}_2$	IV-15
Grafik 4.8	Konsentrasi $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ vs $\text{CO}_2$	IV-16
Grafik 4.9	% penurunan $\text{CO}_2$ vs konsentrasi $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$	IV-16
Grafik 4.10	Pengaruh $\text{ZnSO}_4$ pada $\text{CO}_2$	IV-19
Grafik 4.11	Konsentrasi $\text{ZnSO}_4$ vs $\text{CO}_2$	IV-20
Grafik 4.12	% penurunan $\text{CO}_2$ vs konsentrasi $\text{ZnSO}_4$	IV-20
Grafik 4.13	Pengaruh $\text{CuCl}_2$ pada $\text{CO}_2$	IV-23
Grafik 4.14	Konsentrasi $\text{CuCl}_2$ vs $\text{CO}_2$	IV-24
Grafik 4.15	% penurunan $\text{CO}_2$ vs konsentrasi $\text{CuCl}_2$	IV-24
Grafik 4.16	Pengaruh limbah kertas pada $\text{CO}_2$	IV-26
Grafik 4.17	Konsentrasi limbah kertas vs $\text{CO}_2$	IV-27
Grafik 4.18	Pengaruh $\text{CdSO}_4$ pada pertumbuhan	IV-35
Grafik 4.19	Konsentrasi $\text{CdSO}_4$ vs pertumbuhan	IV-36
Grafik 4.20	% penurunan pertumbuhan vs konsentrasi $\text{CdSO}_4$	IV-36
Grafik 4.21	Pengaruh $\text{HgCl}_2$ pada pertumbuhan	IV-37
Grafik 4.22	Konsentrasi $\text{HgCl}_2$ vs pertumbuhan	IV-38
Grafik 4.23	% penurunan pertumbuhan vs konsentrasi $\text{HgCl}_2$	IV-38

## DAFTAR ISI

Daftar Isi	i
Daftar Tabel	v
Daftar Gambar	vii
Daftar Grafik	viii
Daftar Lampiran	x
Kata Pengantar	xi
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang	I-1
1.2 Tujuan Penelitian	I-4
1.3 Ruang Lingkup Penelitian	I-4
1.4 Prospek Penelitian	I-5
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Ekotoksikologi	II- 1
2.1.1 Pengertian Ekotoksikologi	II- 1
2.1.2 Pengertian Dosis di dalam Ekotoksikologi	II- 2
2.1.3 Sistem Biotik yang terlibat	II- 4
2.1.4 Jenis-Jenis Uji Ekotoksikologi	II- 5
2.2 <i>Saccharomyces</i>	II- 9
2.2.1 Klasifikasi <i>Saccharomyces</i>	II- 9
2.2.2 Habitat	II- 9
2.2.3 Karakteristik	II-10
2.2.4 Sitologi	II-11
2.2.5 Dinding Sel	II-15



2.2.6	Multiplikasi	II-16
2.2.7	Metabolisme	II-17
2.3	Enzim	II-23
2.4	Pertumbuhan	II-29
2.4.1	Pertumbuhan	II-29
2.4.2	Kurva Pertumbuhan	II-31
2.4.3	Bentuk Kurva	II-33
2.4.4	Penyimpangan Kurva	II-35
2.4.5	Faktor Lingkungan	II-36
2.5	Perhitungan Pertumbuhan	II-37
2.5.1	Pengenceran	II-38
2.5.2	Ruang Hitung	II-38
2.5.3	Turbidometer/Nefelometer	II-39
2.6	Lingkungan Hidup	II-40
2.6.1	Faktor Abiotik	II-40
2.6.2	Faktor biotik	II-50
2.7	Pengaruh Toksisitas Logam Berat	
	Terhadap Mikroorganisma	II-53
2.7.1	Interaksi Logam-Mikroorganisma	II-53
2.7.2	Faktor Lingkungan Abiotik	II-56
2.7.3	Faktor Biotik	II-64

### BAB III MATERIAL dan METODOLOGI

3.1	Pengamatan Timbulnya Gas CO <sub>2</sub>	III- 1
3.1.1	Peralatan	III- 1
3.1.2	Komposisi Larutan	III- 1
3.1.3	Metodologi	III- 2

3.2	Pengamatan Pertumbuhan <i>S. cerevisiae</i>	III- 3
3.2.1	Peralatan	III- 3
3.2.2	Media	III- 3
3.2.3	Metodologi	III- 4
3.3	Yeast (Ragi)	III- 4
3.4	Pengaturan pH	III- 4
3.5	Logam Berat	III- 5
3.6	Limbah Pengolahan Kertas	III- 5
3.7	Metode Uji dengan Statistik	III- 6
3.8	Menentukan $LC_{50}$	III-10
BAB IV	KOMPILASI dan ANALISA DATA	
4.1	Hasil Pengamatan Timbulnya Gas $CO_2$	IV- 1
4.2	Analisa	IV- 6
4.2.1	Pengaruh Cd	IV- 7
4.2.2	Pengaruh Hg	IV-10
4.2.3	Pengaruh Pb	IV-12
4.2.4	Pengaruh Zn	IV-17
4.2.5	Pengaruh Cu	IV-21
4.2.6	Pengaruh Limbah Kertas	IV-25
4.3	Hasil Pengamatan Pertumbuhan <i>S. cerevisiae</i>	IV-28
4.4	Analisa	IV-33
4.4.1	Pengaruh Cd	IV-33
4.4.2	Pengaruh Hg	IV-34
4.4.3	Pengaruh Pb	IV-39
4.4.4	Pengaruh Zn	IV-39

4.4.5 Pengaruh Cu	IV-44
4.4.6 Pengaruh Limbah Kertas	IV-45
BAB V KESIMPULAN dan SARAN	
5.1 Kesimpulan	V-1
5.2 Saran	V-3
LAMPIRAN dan PUSTAKA	

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Pengaruh Polutan Terhadap Tingkat Biotik	II- 5
Tabel 2.2	Jenis-Jenis Tes yang Dipergunakan untuk Menguji Pengaruh Bahan Kimia Terhadap Lingkungan	II- 8
Tabel 2.3	Pengaruh pH pada Toksisitas Logam Berat Terhadap Mikroorganisme	II-57
Tabel 2.4	Pengaruh Ion Inorganik Terhadap Toksisitas Logam Berat	II-59
Tabel 2.5	Pengaruh Unsur-Unsur Organik Terhadap Toksisitas Logam Berat	II-63
Tabel 4.1	Pengaruh $\text{CdSO}_4$ Terhadap Gas $\text{CO}_2$	IV- 1
Tabel 4.2	Pengaruh $\text{HgCl}_2$ Terhadap Gas $\text{CO}_2$	IV- 2
Tabel 4.3	Pengaruh $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ Terhadap Gas $\text{CO}_2$	IV- 2
Tabel 4.4	Pengaruh $\text{ZnSO}_4$ Terhadap Gas $\text{CO}_2$	IV- 2
Tabel 4.5	Pengaruh $\text{CuCl}_2$ Terhadap Gas $\text{CO}_2$	IV- 3
Tabel 4.6	Pengaruh Limbah Pengolahan Kertas Terhadap Gas $\text{CO}_2$	IV- 3
Tabel 4.7	Penurunan Gas $\text{CO}_2$ Karena $\text{CdSO}_4$	IV- 3
Tabel 4.8	Penurunan Gas $\text{CO}_2$ Karena $\text{HgCl}_2$	IV- 4
Tabel 4.9	Penurunan Gas $\text{CO}_2$ Karena $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$	IV- 5
Tabel 4.10	Penurunan Gas $\text{CO}_2$ Karena $\text{ZnSO}_4$	IV- 5
Tabel 4.11	Penurunan Gas $\text{CO}_2$ Karena $\text{CuCl}_2$	IV- 6
Tabel 4.12	Penurunan Gas $\text{CO}_2$ Karena Limbah Kertas	IV- 6
Tabel 4.13	Pengaruh $\text{CdSO}_4$ Terhadap Pertumbuhan <i>S. cerevisiae</i>	IV-28
Tabel 4.14	Pengaruh $\text{HgCl}_2$ Terhadap Pertumbuhan <i>S. cerevisiae</i>	IV-28
Tabel 4.15	Pengaruh $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ Terhadap Pertumbuhan <i>S. cerevisiae</i>	IV-28

Tabel 4.16 Pengaruh $\text{ZnSO}_4$ Terhadap Pertumbuhan <i>S. cerevisiae</i>	IV-29
Tabel 4.17 Pengaruh $\text{CuCl}_2$ Terhadap Pertumbuhan <i>S. cerevisiae</i>	IV-29
Tabel 4.18 Pengaruh Limbah Kertas Terhadap Pertumbuhan <i>S. cerevisiae</i>	IV-29
Tabel 4.19 Penurunan Laju Pertumbuhan Karena $\text{CdSO}_4$	IV-31
Tabel 4.20 Penurunan Laju Pertumbuhan Karena $\text{HgCl}_2$	IV-31
Tabel 4.21 Penurunan Laju Pertumbuhan Karena $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$	IV-32
Tabel 4.22 Penurunan Laju Pertumbuhan Karena $\text{ZnSO}_4$	IV-32
Tabel 4.23 Penurunan Laju Pertumbuhan Karena $\text{CuCl}_2$	IV-32
Tabel 4.24 Penurunan Laju Pertumbuhan Karena Limbah Kertas	IV-33
Tabel 5.1 Tabel $\text{LC}_{50}$ Logam Berat	V- 1

# DAFTAR GAMBAR

11-3	Gambar 2.1	Skematik masuknya polutan ke dalam ekosistem
11-7	Gambar 2.2	Skematik ekosistem tanah
11-9	Gambar 2.3	Skematik klasifikasi ragi
11-11	Gambar 2.4	Struktur sel <i>S. cerevisiae</i>
11-15	Gambar 2.5	Dinding sel <i>S. cerevisiae</i>
11-16	Gambar 2.6	Reproduksi <i>S. cerevisiae</i>
11-17	Gambar 2.7	Siklus hidup <i>S. cerevisiae</i>
11-22	Gambar 2.8	Skematik proses fermentasi oleh <i>S. cerevisiae</i>
11-25	Gambar 2.9	Reaksi enzim-substrat
11-26	Gambar 2.10	Hubungan antara enzim dengan konsentrasi enzim, konsentrasi substrat, suhu dan pH
11-27	Gambar 2.11	Contoh reaksi enzim-substrat
11-28	Gambar 2.12	Asam malonat
11-29	Gambar 2.13	Contoh hambatan kompetitif
11-31	Gambar 2.14	Kurva pertumbuhan mikoroganisma
11-35	Gambar 2.15	Pengaruh lingkungan terhadap kurva pertumbuhan
11-39	Gambar 2.16	Ruang hitung
11-70	Gambar 2.17	Skematik masuknya logam ke dalam sel <i>S. cerevisiae</i>
111-2	Gambar 3.1	Skematik alat uji gas CO <sub>2</sub>
111-3	Gambar 3.2	Skematik alat uji gas CO <sub>2</sub>
111-5	Gambar 3.3	Metode pengenceran
111-13	Gambar 4.1	Fiksasi dan transportasi senyawa merkuri

## DAFTAR LAMPIRAN

Tabel L.1 AGC dari CO <sub>2</sub> Larutan Blanko	lampiran- 1
Tabel L.2 Distribusi Frekuensi	lampiran- 1
Grafik AGC Larutan Blanko	lampiran- 2
Grafik Distribusi Frekuensi	lampiran- 3
Tabel L.3 Uji Statistik CdSO <sub>4</sub>	lampiran- 4
Tabel L.4 Uji ANOVA CdSO <sub>4</sub>	lampiran- 4
Tabel L.5 Uji Statistik HgCl <sub>2</sub>	lampiran- 5
Tabel L.6 Uji ANOVA HgCl <sub>2</sub>	lampiran- 5
Tabel L.7 Uji Statistik Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	lampiran- 6
Tabel L.8 Uji ANOVA Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	lampiran- 6
Tabel L.9 Uji Statistik ZnSO <sub>4</sub>	lampiran- 7
Tabel L.10 Uji ANOVA ZnSO <sub>4</sub>	lampiran- 7
Tabel L.11 Uji Statistik CuCl <sub>2</sub>	lampiran- 8
Tabel L.12 Uji ANOVA CuCl <sub>2</sub>	lampiran- 8
Tabel f <sub>0,05</sub> (v <sub>1</sub> , v <sub>2</sub> )	lampiran- 9
Daftar Pustaka	

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 LATAR BELAKANG

Logam berat pada umumnya dikenal karena daya toksiknya terhadap mikroorganisme dan bentuk kehidupan lainnya. Akan tetapi, banyak unsur hara yang sangat dibutuhkan dalam pertumbuhan dan metabolisme pada konsentrasi rendah adalah logam berat seperti: Cu, Zn, Fe, Ni, Mn, Co; dan mikroorganisme memiliki mekanisme yang berbeda terhadap akumulasi intraselular dari lingkungan eksternalnya.<sup>14</sup>

Meningkatnya kegiatan industri telah mempercepat pemakaian logam berat di atas kemampuan daur ulang geokimia alami dan meningkatkan penimbunan logam berat di lingkungan perairan serta daratan. Emisi dari Cd, Zn, dan Pb dihasilkan dari proses seperti pembakaran bahan bakar dan kegiatan pertambangan. Perubahan sistem pertanian, seperti pemakaian pupuk juga mempercepat laju aktivitas biologi di dalam tanah. Sebagai akibat meningkatnya penimbunan logam berat di dalam lingkungan maka mikroorganisme yang hidup di lingkungan air dan tanah akan terpapar oleh logam berat. Oleh karena itu diperlukan perencanaan untuk mempertahankan kemampuan hidup dan reproduksi dari mikroorganisme.

Toksisitas logam berat berpengaruh dalam banyak cara,



meskipun kebanyakan mekanisme toksisitas logam berat tersebut disebabkan oleh kuatnya kemampuan ikatan ion logam. Toksisitas logam berat akan terjadi jika logam masuk ke dalam sel. Hampir semua metabolisme mikroorganisme dan aktivitas di dalam ekosistem air dan tanah akan turun jika lingkungannya tercemari oleh logam berat. Termasuk di dalamnya produktivitas primer, fiksasi nitrogen, siklus biogeokimia dari C, N, S, P dan unsur lainnya, dekomposisi sampah, sintesa enzim, dan aktivitas di dalam tanah, sedimen serta air. Karena keterlibatan mikrobiologis dalam proses-proses ekologi, seperti pada pertumbuhan tanaman dan produktivitas dan asosiasi simbiotik, maka pencemaran logam berat berdampak serius dan berjangka panjang, akhirnya berpengaruh terhadap manusia melalui bioakumulasi dan masuk ke dalam rantai makanan.

Di dalam lingkungan yang tercemar, logam berat mungkin bukan satu-satunya komponen berbahaya terhadap mikroorganisme. Polutan lainnya yang mungkin ada dan mengganggu lingkungan karena pengaruh industri adalah pH yang terlalu ekstrim dan buruknya nutrisi seperti, leachate dan buangan kegiatan pertambangan. Seperti, lingkungan perairan mengandung unsur organik yang bervariasi dan kadar salinitas yang berbeda. Karakteristik fisika-kimia pada lingkungan di mana logam berat tersebut

terdeposit menentukan bentuk dan kemampuan biologis dari logam berat serta toksisitasnya, misalnya faktor-faktor abiotik seperti pH, potensial oksidasi-reduksi (Eh), aerasi, anion dan kation inorganik, unsur organik terlarut dan partikulat, mineral tanah liat, logam hidroksida, salinitas, suhu dan tekanan hidrostatik. Di mana beberapa faktor dapat menurunkan toksisitas logam berat. Ikatan yang terjadi antara unsur organik lingkungan, seperti: asam humat dan asam fulvat, protein, unsur organik chelator, dapat memisahkan logam dari larutan atau membentuk senyawa kompleks sehingga tidak segera diakumulasi oleh mikroorganisme sebagai kation bebas. Aspek fisiologi sel dapat dipengaruhi oleh pH, misalnya transportasi nutrisi, laju dan tingkat metabolisme. Jadi pengaruh pH dapat menaikkan, menurunkan, atau tidak mempengaruhi toksisitas logam. Akan tetapi, dalam banyak penelitian menunjukkan bahwa pH asam akan menurunkan toksisitas logam, sedangkan toksisitas akan naik jika pH bersifat basa, dan pada beberapa penelitian menunjukkan bahwa toleransi mikroorganisme terhadap logam terjadi pada kondisi asam. Anion-anion seperti  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{S}^{2-}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ , dan lain-lain dapat menurunkan toksisitas logam dengan membentuk endapan karbonat, sulfida, dan fosfat.

Kesulitan-kesulitan yang mungkin timbul di dalam studi ekologi dari pencemaran logam perlu diperhatikan,

baik secara teoritik maupun praktik. Studi di dalam laboratorium perlu memperhatikan kondisi alami mengenai metabolisme mikroorganisme yang diteliti. Akan tetapi, perlu ditekankan, bahwa penelitian di lapangan dan di laboratorium dapat saling melengkapi. Masalah yang timbul karena pencemaran logam berat terhadap lingkungan banyak macamnya dan pengaruh toksistas logam berat terhadap sistem biotik juga berbeda. Oleh karena itu di dalam studi ekotoksikologi diperlukan suatu metode uji yang berbeda untuk tiap tingkatan organisme serta habitat di mana tingkat organisme itu hidup.

Uji ekotoksikologi mikroorganisme di dalam tanah adalah dengan mengamati respirasi di dalam tanah dan kegiatan mikroorganisme heterotropik.<sup>12</sup> Salah satu dari mikroorganisme heterotropik di dalam tanah adalah *Saccharomyces cerevisiae*. Pemilihan mikroorganisme tersebut sebagai sistem biotik di dalam uji ekotoksikologi karena kegiatan respirasi *S. cerevisiae* secara fermentasi menghasilkan produk yang mudah diamati (yaitu timbulnya gas  $CO_2$ ), pertimbangan peralatan, dan karena ragi (khususnya *S. cerevisiae*) telah banyak dimanfaatkan di dalam bidang bioteknologi, dan kemajuan terakhir di dalam biologi molekuler dan genetika telah memperkuat posisi *Saccharomyces cerevisiae* sebagai sistem model mikroorganisme yang paling penting untuk studi organisme

eukariot. Karena sebagai organisme eukariot *Saccharomyces cerevisiae* mempunyai organel-organel sel yang paling lengkap dan representatif untuk organisme eukariot yang lebih tinggi.<sup>11, 12</sup>

## 1.2 TUJUAN PENELITIAN

Adapun tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh toksisitas logam berat seperti Cd, Cu, Zn, Hg, Pb, dan limbah pengolahan kertas terhadap pertumbuhan dan kegiatan fermentasi *Saccharomyces cerevisiae* dengan metode pendekatan ekotoksikologi.

Limbah pengolahan kertas hampir tidak mengandung logam berat, akan tetapi limbah ini menyebabkan pencemaran lingkungan, khususnya badan air, karena BOD limbah yang tinggi. Oleh karena itu perlu diketahui tingkat toksisitas limbah pengolahan kertas terhadap *Saccharomyces cerevisiae*.

## 1.3 RUANG LINGKUP PENELITIAN

Untuk mewujudkan tujuan penelitian di atas maka ruang lingkup penelitian adalah sebagai berikut:

1. Mengoptimalkan pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* dengan mengatur pH larutan dan suhu, serta menjaga kondisi sistem dalam keadaan anaerob selama penelitian berlangsung. Kondisi anaerob ini diperlukan untuk

mengoptimasi proses fermentasi glukosa oleh *Saccharomyces cerevisiae*.

2. Senyawa logam berat yang akan diteliti daya toksiknya terhadap *Saccharomyces cerevisiae* adalah:  $\text{CuCl}_2$ ,  $\text{HgCl}_2$ ,  $\text{CdSO}_4$ ,  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ , dan  $\text{ZnSO}_4$ .
3. Pengaruh toksisitas logam berat dapat diamati terhadap pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* dan hasil fermentasi glukosa, yaitu gas karbon dioksida. Begitu pula pengaruh limbah pengolahan kertas diamati terhadap pertumbuhan dan hasil fermentasi glukosa oleh *Saccharomyces cerevisiae*.
4. Membandingkan pengaruh konsentrasi logam berat dan membandingkan pengaruh perubahan nilai BOD limbah pengolahan kertas terhadap pertumbuhan dan proses fermentasi *Saccharomyces cerevisiae*.
5. Menentukan nilai  $\text{LC}_{50}$  limbah dan logam berat terhadap pertumbuhan dan proses fermentasi glukosa oleh *Saccharomyces cerevisiae*.

#### 1.4 PROSPEK PENELITIAN

Sifat toksisitas logam berat terhadap mikroorganisme telah banyak dimanfaatkan untuk mengendalikan pertumbuhan alga, desinfektan, insektisida, dan lain-lain. Interaksi yang terjadi antara logam berat dan mikroorganisme terjadi jika logam berat terakumulasi di dalam sel. Dari

penelitian yang telah dilakukan oleh banyak ahli,<sup>2,10</sup> ternyata tidak semua mikroorganisme tersebut sensitif terhadap akumulasi logam berat. Dari populasi yang tercemar oleh logam berat ada strain yang resistan (tahan) terhadap toksisitas logam berat. Kegiatan metabolisme sel dari strain yang resistan dapat berjalan sebagaimana mestinya meskipun di dalam larutan sel terakumulasi logam berat, misalnya strain resistan *S. cerevisiae* dapat mengakumulasi Cd sebesar 0,2 - 3,1% berat keringnya.<sup>11</sup>

Dengan uji ekotoksikologi yang lebih mendalam, maka akan banyak didapatkan strain-strain mikroorganisme yang resistan terhadap logam berat serta diketahui lebih lanjut mengenai metabolisme yang terjadi pada strain tersebut. Strain yang resistan tersebut dapat dimanfaatkan untuk pengolahan limbah logam berat yang berasal dari industri, pertambangan, dan lain-lain.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 EKOTOKSIKOLOGI

##### 2.1.1 PENGERTIAN

Ekotoksikologi adalah suatu studi mengenai kontaminasi terhadap lingkungan, dan mempunyai hubungan yang sangat erat dengan ekologi dan konsep-konsep ekologi (A. Boudou dan P. Ribeyre).<sup>2</sup> Sedangkan menurut H.J. Hueck, ekotoksikologi adalah suatu studi mengenai hubungan antara pengaruh dosis bahan kimia di dalam lingkungan terhadap sistem biotik termasuk di dalamnya berbagai tingkatan infra dan supra organisme. Ekotoksikologi dikembangkan dengan menggunakan beberapa dasar ekologi sebagai struktur dan fungsi sistem biotik.<sup>17</sup>

Ekologi adalah suatu ilmu pengetahuan yang mempelajari tentang hubungan antara organisme dan lingkungannya (Kormondy, 1965). Sedangkan lingkungan adalah semua faktor eksternal yang bersifat biologis dan fisik yang langsung mempengaruhi kehidupan, pertumbuhan, perkembangan, dan reproduksi organisme.<sup>5</sup>

Penelitian yang dilakukan di lapangan, secara keseluruhan pada ekosistem, memberikan gambaran yang akurat mengenai proses-proses ekotoksikologi, tetapi rumitnya kompleksitas dari struktur yang terlibat dan terbatasnya peralatan yang ada kadang-kadang dapat

menimbulkan masalah dalam bidang ini.

Sedangkan penelitian yang dilakukan di dalam laboratorium harus berdasarkan pada struktur ekologi yang telah disederhanakan. Penelitian di laboratorium memang tidak menghasilkan simulasi sempurna seperti proses aslinya, tetapi memberikan bantuan yang cukup besar untuk memahami proses yang sedang diteliti dan untuk menambah wawasan mengenai fenomena ekotoksikologi.

Sehubungan dengan pengertian ekotoksikologi di atas maka perlu diperhatikan mengenai pengertian dosis, sistem biotik yang terlibat, jenis-jenis pengaruh bahan kimia terhadap sistem biotik, dan jenis-jenis tes yang dilakukan.

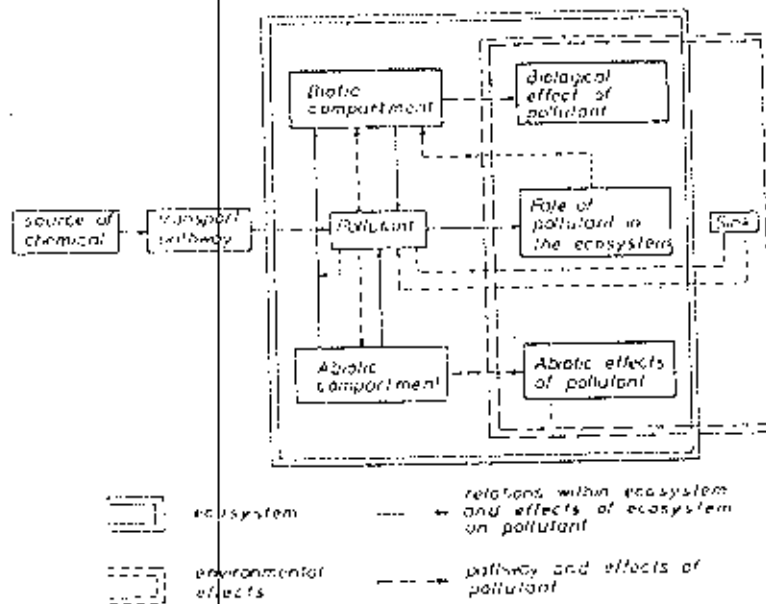
#### 2.1.2 PENGERTIAN DOSIS DI DALAM EKOTOKSIKOLOGI<sup>17</sup>

Terdapat perbedaan yang mendasar antara konsep dosis di dalam toksikologi manusia dan dosis di dalam ekotoksikologi. Di dalam toksikologi makhluk berdarah panas (binatang) dosis berarti *jumlah yang diberikan pada suatu waktu*. Dan jika dikaitkan dengan pengaruhnya, umumnya disebut dengan LD<sub>50</sub>. Dalam hal ini, bahan kimia langsung dimasukkan ke dalam lingkungan internal organisme.

Di dalam ekotoksikologi, situasinya lebih rumit. Bahan kimia yang dimasukkan dengan satu cara atau lebih,



biasanya masuk ke dalam lingkungan eksternal dari sistem yang akan diteliti seperti ditunjukkan pada gambar 2.1 berikut ini (Hueck van der Plas, 1974).



Gambar 2.1 Skematik masuknya polutan ke dalam ekosistem

Dari skema di atas dapat dijelaskan sebagai berikut:

- Bahan kimia masuk ke dalam ekosistem melalui berbagai cara, yaitu melalui air, tanah, atau udara.
- Faktor biotik dan abiotik di dalam ekosistem saling berkaitan satu sama lain.
- Polutan yang masuk ke dalam ekosistem dapat mempengaruhi komponen biotik secara langsung atau dengan cara mengganggu interaksi komponen biotik dan abiotik tersebut.
- Sebaliknya, ekosistem juga mempengaruhi polutan yang

masuk dengan cara biodegradasi dan biotransformasi atau dengan proses kimia fisika. Besarnya proses penolakan ini juga sebanding dengan kuantitas dan kualitas polutan.

e. Akhirnya, polutan dapat dipindahkan dari ekosistem ke penampung, seperti sedimen atau berubah menjadi fase lain misalnya dengan volatilisasi.

Semua reaksi di lingkungan eksternal dari organisme menunjukkan waktu detensi polutan. Untuk menyatakan pengaruhnya terhadap organisme dinyatakan dengan  $LC_{50} \cdot t_x$ . Biasanya disingkat menjadi  $LC_{50}$ .

Jika polutan masuk ke dalam lingkungan internal organisme, maka fenomena ini disebut bioakumulasi. Jumlah yang terakumulasi dibandingkan dengan dosis bahan kimia yang dimasukkan dalam toksikologi manusia.

Penjelasan di atas menunjukkan bahwa jika ekotoksikologi adalah suatu studi mengenai hubungan antara dosis bahan kimia dan lingkungan terhadap sistem biotik yang terdapat di lingkungan, maka diperlukan pengetahuan mengenai sifat-sifat fisik dan kimiawi bahan kimia, uji biodegradasi dan biotransformasi dan menentukan bioakumulasi.

### 2.1.3 SISTEM BIOTIK YANG TERLIBAT

Sistem biotik dapat dibagi menurut tingkatan

organisasinya. Tiap-tiap tingkat mempunyai reaksi khusus terhadap polutan sesuai dengan tabel 2.1 berikut.

TABEL 2.1 BEBERAPA PENGARUH POLUTAN TERHADAP TINGKAT BIOTIK

level of organization	examples of effects	
	structural aspects	functional aspects
biomolecules	DNA defects	impairment of repair and replication; increased mutation rate
cells	chromosome defects	impairment of cell metabolism
tissues	histopathology, tumor formation	functional impairment
organs	pathological morphology, teratogenicity	
organisms	pathological morphology, dwarfism	impairment of growth; mortality
populations	sex ratio; age distribution	impairment of reproduction
communities	loss of diversity	loss of stability

#### 2.1.4 JENIS-JENIS UJI EKOTOKSIKOLOGI

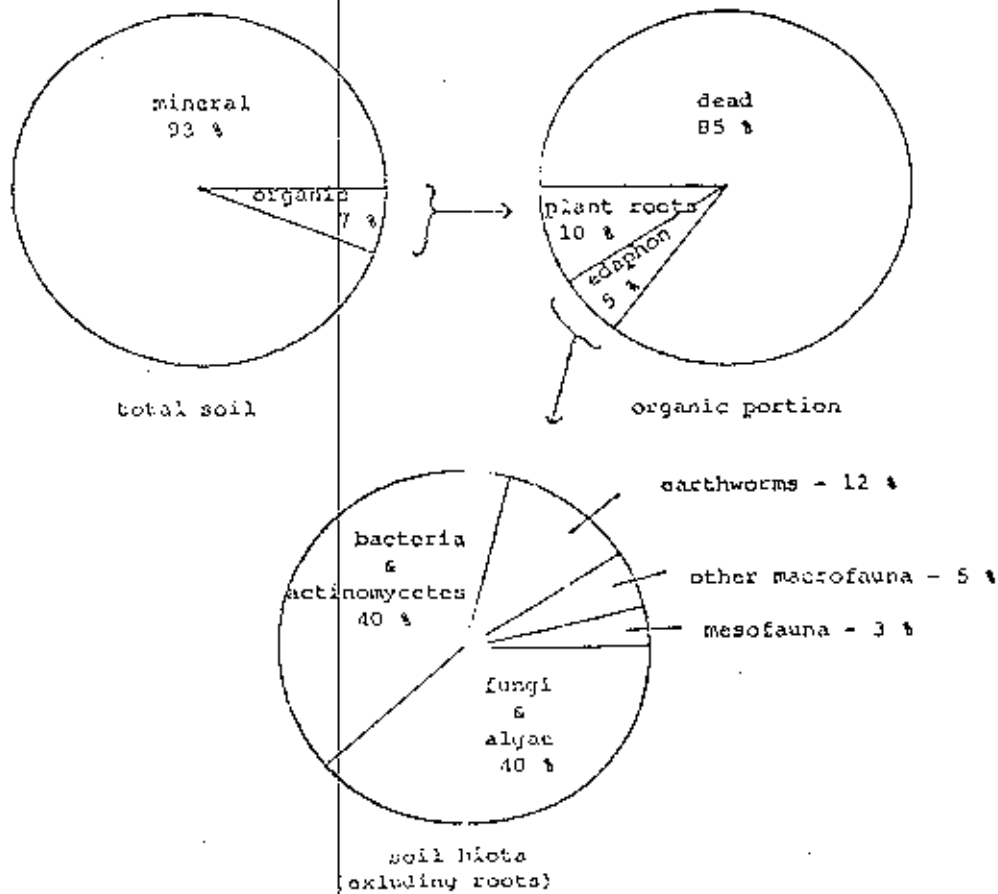
Uji ekotoksikologi dapat dilakukan dengan tiga cara yaitu:

- Uji statik, yaitu konsentrasi bahan kimia yang dimasukkan hanya sekali dan media uji tidak diganti selama waktu penelitian.
- Uji semi-statik, yaitu media dan bahan kimia diperbarui secara periodik.
- Uji konstan flow, yaitu media dan bahan kimia

disiplinkan secara kontinu terhadap organisme yang diuji pada kondisi yang selalu sama.

Sistem uji yang dilakukan dalam bidang ekotoksikologi perlu memperhatikan perbedaan tingkat organisasi organisme yang diuji dan yang lebih penting adalah perbedaan habitat organisme yang diuji, misalnya: air dan tanah, membutuhkan sistem uji yang berbeda. Dapat dijelaskan sebagai berikut, udara sebagai habitat organisme tidak terlalu penting. Pencemaran udara umumnya terjadi di lapisan dekat tanah (Odum, 1971) sehingga berkaitan dengan vegetasi dan binatang yang hidup di tanah. Udara adalah media transpor. Air merupakan habitat yang penting untuk organisme dan merupakan media transportasi yang baik. Meskipun keragaman organisme yang hidup di dalamnya sangat besar, cukup banyak yang diketahui mengenai ekologiannya sehingga pemilihan organisme yang mewakili dapat dilakukan. Uji biologi umumnya bertujuan untuk mengetahui aspek struktural komunitas, melalui beberapa uji fungsional yang ada. Tanah sangat kaya akan komunitas organisme tetapi komunitas ini sangat berbeda di seluruh dunia dan hampir tidak dapat dipakai untuk tujuan penelitian. Mikroorganisme adalah organisme yang dominan di dalam tanah sehingga menyulitkan untuk memilih uji terhadap spesies tertentu. Jenis uji yang memberikan banyak manfaat terhadap pencemaran tanah adalah dengan

mengamati respirasi yang terdapat di dalamnya.



Gambar 2.2 Skematik ekosistem tanah  
(Odum, 1971)

Tabel 2.2 JENIS-JENIS TES YANG DIPERGUNAKAN UNTUK MENGUJI PENGARUH BAHAN KIMIA TERHADAP LINGKUNGAN

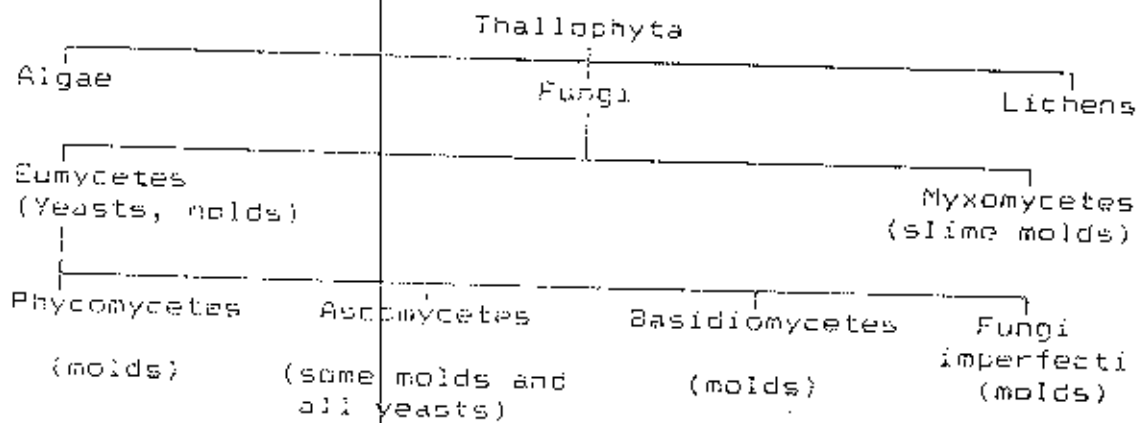
level of organization	environmental compartment		
	air	water	soil
cells	<ul style="list-style-type: none"> <li>- test on enzyme inhibition and enzymatic synthesis</li> <li>- in vitro tests with erythrocytes and chloroplasts</li> <li>- cell respiration and photosynthesis</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- tests on enzyme inhibition</li> <li>- cekk respiration</li> <li>- heterotrophic activity</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- soil respiration</li> <li>- heterotrophic activity</li> </ul>
tissues	<ul style="list-style-type: none"> <li>- tissue culture tests, a.o. pulmonary tissue</li> <li>- hispathological studies</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- tissue culture tests (fish)</li> <li>- rarely histopathological studies</li> </ul>	
organs	<ul style="list-style-type: none"> <li>- lung function test</li> <li>- liver function test</li> <li>- plant leaf respiration</li> <li>- growth of <i>Avena coleoptiles</i></li> <li>- pathological morphology of lungs</li> <li>- eye irritation tests with mammals</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- liver function tests (fish)</li> <li>- brain activity and brain damage (fish)</li> <li>- thallus growth of macroalgae</li> </ul>	
organisms	<ul style="list-style-type: none"> <li>- exposure chamber tests with higher plants (also seedlings) and lichens</li> <li>- inhalation tests with mammals and birds</li> <li>- rarely, test with lower animals</li> <li>- tests with bryophytes criteria, pathological anatomy, growth, respiration, photosynthesis</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- test with organisms such as Mollusca, Annelida, Polychaeta, Crustaceae, Echino dermata, Pisces, majority of tests is with fish, criteria: mortality and occasionally growth or reproduction</li> <li>- rarely, test with hydrozoa and macroalgae</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- pot experiments with higher plants</li> <li>- tests with organism such as Collembola and Lumbricidae, criteria: growth, mortality</li> <li>- rarely, tests with other animals such as: nematodes and microarthropods</li> </ul>
populations	<ul style="list-style-type: none"> <li>- occasional experiments with bacteria and algae</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- reproduction tests with microorganisms (bacteria, fungi, microalgae, protozoa) or with microalgae, crustaceae and fish</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- tests with bacteria, soil algae and protozoa</li> </ul>
communities	<ul style="list-style-type: none"> <li>- microcosms, e.g., moss carpets, lichen vegetation, turfgrass</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- microcosms with zoo- and phytoplankton, fish</li> <li>- experiments with pond communities</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- litter-bag (gross heterotrophic decay)</li> <li>- microcosms with soil communities</li> <li>- pot experiments with mixed vegetation</li> </ul>

## 2.2 SACCHAROMYCES

### 2.2.1 KLASIFIKASI SACCHAROMYCES<sup>6, 19</sup>

Posisi sistematika dari *Saccharomyces* adalah sebagai berikut:

Sub-divisi : Eumycetes  
 Kelas : Ascomycetes  
 Sub-kelas : Hemi-ascomycetes  
 Ordo : Endomycetales  
 Family : Saccharomycetaceae  
 Genus : *Saccharomyces*



Gambar 2.3 Skematik klasifikasi raji

### 2.2.2 HABITAT<sup>19</sup>

Raji (yeast) banyak terdapat di alam. Umumnya mereka terdapat pada tempat-tempat yang banyak mengandung gula misalnya: nektar bunga, permukaan buah-buahan, dan

lain-lain. Ragi juga banyak ditemukan di tanah (khususnya di perkebunan anggur), kotoran binatang, susu, dan lain-lain. Kebanyakan dari ragi bersifat saprofit dan sedikit sekali yang bersifat patogen terhadap tanaman dan binatang termasuk manusia.

### 2.2.3 KARAKTERISTIK <sup>3, 19</sup>

Yeast (ragi) adalah jamur askomicetes yang berbentuk bulat, lonjong atau memanjang dengan ukuran panjang sel antara 8-12  $\mu$  dan lebar antara 8-10  $\mu$ . Di mana pertumbuhannya secara umum dan dominan dalam bentuk sel. Ragi atau cendawan hidup pada pH optimum antara 3,8 - 5,6; suhu optimum 22 - 30<sup>o</sup> C, kadar gula dalam laboratorium 4-5 % dan senyawa karbon yang dibutuhkan adalah senyawa karbon organik.

Beberapa species ragi dan jamur dalam keadaan tertentu akan tumbuh dalam bentuk filamen (benang halus), sedangkan dalam kondisi lain akan tumbuh dalam fase ragi (berbentuk sel). Kemampuan beberapa jamur, dapat tumbuh baik dalam fase yeast (ragi) atau fase filamen atau fase miselium dipengaruhi oleh banyak faktor, misalnya: ragi cenderung hidup dalam fase filamen jika lingkungannya bersuhu rendah dan sel telah tua, ragi cenderung hidup dalam fase yeast (berbentuk sel) jika makanan cukup dan kondisi lingkungannya anaerob.

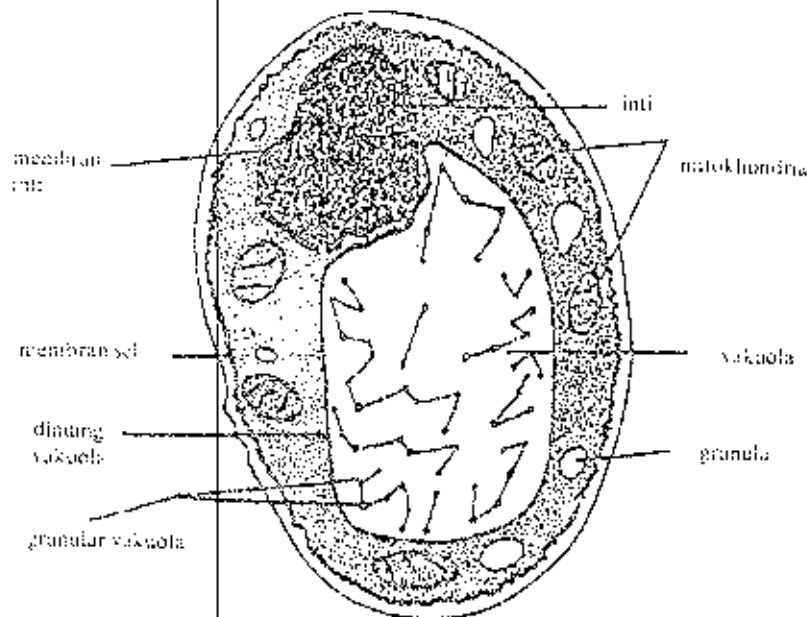


#### 2.2.4 SITOLOGI<sup>6, 12, 14</sup>

Struktur sel ragi, adalah sebagai berikut (gambar 2.4):

##### a. Dinding sel

Dinding sel sebagian besar disusun oleh karbohidrat yang biasa disebut selulosa ragi.



Gambar 2.4 Struktur sel *S. cerevisiae*

##### b. Membran sel (membran sitoplasma)

Membran ini terdiri atas lipoprotein (protein di sebelah luar dan dalam, serta lipida di lapisan

tengah), dan bersifat semipermeabel, artinya dapat dilalui oleh air dan sebagian zat yang terlarut. Membran sel berfungsi sebagai pelindung bagian sel yang terdapat di dalamnya dan sebagai pintu gerbang bagi pemasukan dan pengeluaran zat-zat dari dan ke dalam sel. Membran ini dikelilingi oleh dinding sel. Pada sel yang masih muda membran ini cukup tipis akan tetapi akan semakin tebal dengan bertambahnya usia sel.

*c. Kapsula*

Dinding sel beberapa ragi dikelilingi oleh senyawa karbohidrat yang sama dengan unsur-unsur kapsula pada bakteri.

*d. Sitoplasma*

Sitoplasma merupakan cairan yang kaya akan asam ribonukleat (RNA) yang terletak di luar inti sel. Di dalam sitoplasma terdapat mitokondria, granula, vakuola serta benda-benda lainnya, termasuk massa pembentukan inti. Sitoplasma merupakan tempat berlangsungnya proses metabolisme.

*e. Mitokondria*

Berbentuk endosim (mengandung RNA) yang berperan di dalam proses pembentukan energi. Dinding mitokondria terdiri atas dua lapis, dinding dalam yang berlekuk-lekuk disebut kista, berfungsi untuk memperluas bidang permukaan agar proses penyerapan

oksigen lebih efektif. Hasil oksidasi senyawa organik dalam mitokondria adalah energi yang berfungsi untuk membentuk ATP. Di lapisan dalam mitokondria terdapat enzim pernafasan dan enzim-enzim yang penting untuk reaksi daur Krebs. Karena mitokondria dapat berperan sebagai pusat pembangkit tenaga sel, maka sering disebut satuan pembangkit tenaga.

f. *Vakuola*

Vakuola terletak di dalam sitoplasma. Vakuola mengandung larutan yang disebut sap sel. Vakuola banyak mengandung enzim pengurai dan merupakan tempat penyimpanan substrat-substrat sel tertentu.

g. *Granula*

Granula di dalam sel akan tampak jelas pada sel yang telah tua. Granula pada sel ragi terdiri atas granula metakromatik atau volutin, dan glikogen serta fat globula.

h. *Metakromatik Granula*

Metakromatik granula atau volutin banyak terdapat di dalam jamur dan merupakan elemen yang sangat penting di dalam ragi. Metakromatik granula terletak di dalam vakuola dan juga terdapat di dalam sitoplasma yang mengelilingi vakuola. Metakromatik granula kaya akan organik fosfat. Sebagian besar tersusun oleh metafosfat yang berpolimerisasi dan tidak larut, berasosiasi

dengan asam nukleat dan lipida.

i. *Retikulum endoplasma*

Retikulum endoplasma mempunyai struktur seperti jala yang terdiri atas saluran-saluran halus yang berfungsi sebagai alat pengangkut dari nukleus ke ruang luar sel.

j. *Badan golgi*

Protein yang dihasilkan dari retikulum endoplasma ditransportasikan pertama kali ke badan golgi dan merupakan tempat pertama kali terjadinya modifikasi protein. Badan golgi juga berperan dalam proses ekskresi.

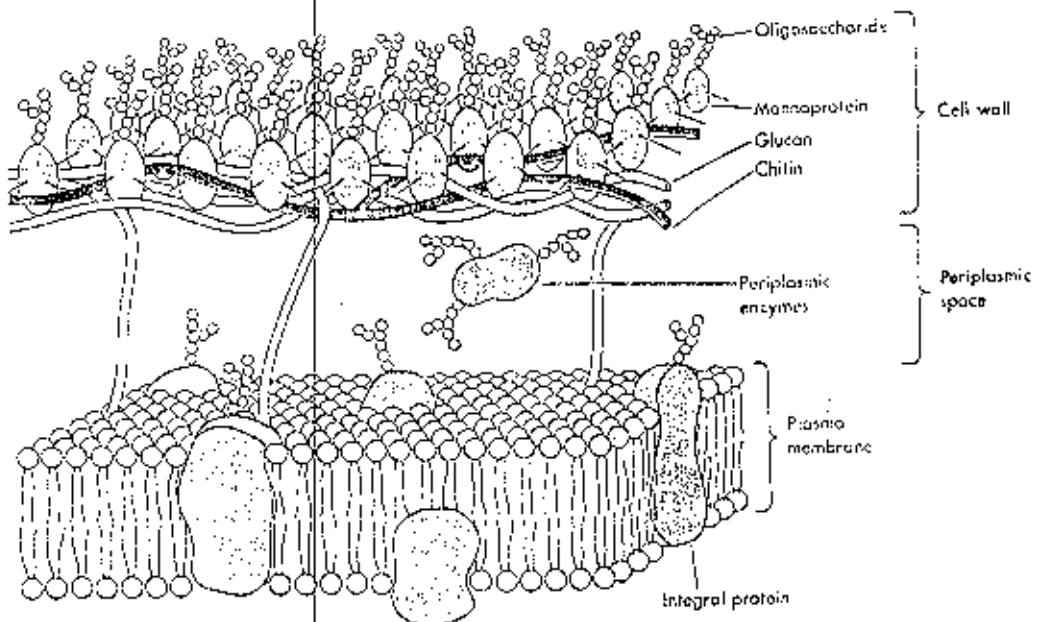
k. *Nukleus*

Merupakan organel terbesar dan berfungsi sebagai pengendali seluruh proses faal yang terjadi di dalam sel. Inti sel terdiri atas beberapa bagian, yaitu:

- membran inti yang mengandung pori-pori, merupakan membran rangkap yang terdiri atas lipoprotein.
- nukleoplasma, plasma yang terdapat didalam inti sel.
- nukleolus, terdapat satu atau lebih, merupakan struktur yang banyak mengandung DNA/RNA.
- benang-benang kromatin, yang terdiri atas butir-butir kromatin. Di dalam bagian ini terdapat gen yang bertugas membawa sifat-sifat menurun. Pada saat berlangsungnya pembelahan sel, benang kromatin memendek dan menebal, maka disebut kromosom.

### 2.2.5 DINDING SEL<sup>12</sup>

Dinding sel ragi yang melindungi membran plasma merupakan lapisan yang tebal dan tersusun dari jalinan polisakarida serta senyawa kompleks protein yang panjang. Lapisan luarnya merupakan kesatuan kuat *mannoprotein* yang sebagian besar terdiri dari gugus mannososa yang berikatan kovalen dengan gugus N-asetilglukosamina. Antara *mannoprotein* dan membran plasma terdapat ruang periplasmik. Di ruang ini, sejumlah enzim pengurai terletak antara polisakarida glukosa yang tipis dan panjang (gugus polimer D-glikopiranososa) dan kitin (polimer N-asetilglukosilamina).

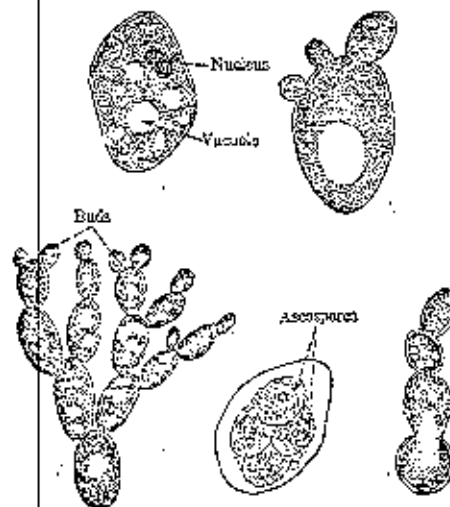


Gambar 2.5 Dinding sel *S. cerevisiae*

### 2.2.6 MULTIPLIKASI<sup>18, 19</sup>

*Saccharomyces* memperbanyak diri dengan cara seksual dan aseksual. Reproduksi dengan cara aseksual dibagi menjadi dua yaitu: penguncupan dan pembelahan. Reproduksi dengan cara penguncupan dijumpai pada *Saccharomycetaceae* dan pembelahan dijumpai pada *Schizosaccharomycetaceae*.

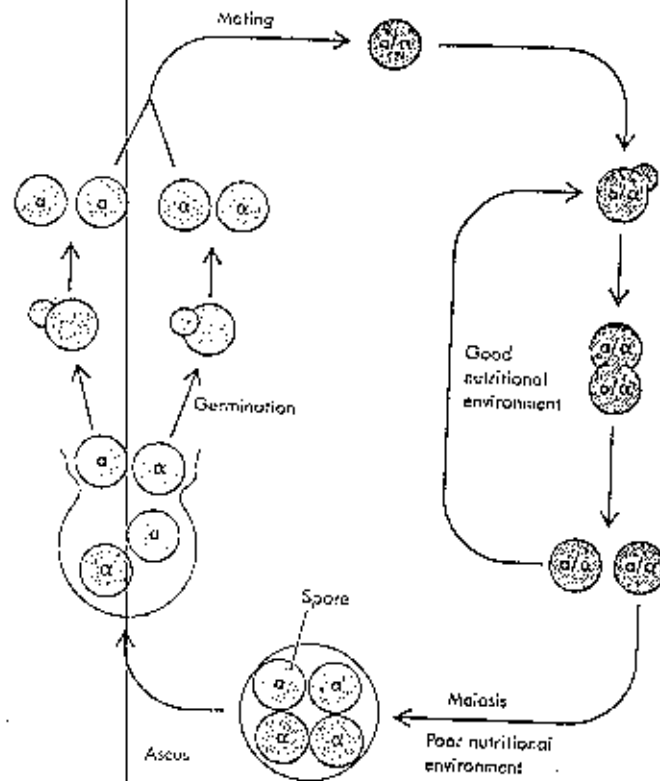
Reproduksi dengan cara penguncupan merupakan metode multiplikasi yang sangat cepat, metode ini terjadi jika makanan yang tersedia cukup banyak.



Gambar 2.6 Reproduksi *S. cerevisiae*

Reproduksi dengan cara pembelahan terjadi jika sel membesar dan nukleusnya terbagi menjadi dua.

Sedangkan reproduksi secara seksual terjadi jika makanan yang tersedia tidak mencukupi.



Gambar 2.7 Siklus hidup *S. cerevisiae*

### 2.2.7 METABOLISME<sup>3</sup>, 6, 19

Fungi atau jamur adalah organisme heterotrofik, mereka membutuhkan senyawa organik untuk nutrisinya. Bila mereka hidup dari benda organik mati yang terlarut, mereka disebut saprofit. Saprofit menghancurkan sisa-sisa tumbuhan dan hewan, menguraikannya menjadi zat-zat kimia yang lebih sederhana, dan selanjutnya zat-zat hasil peruraian tersebut bermanfaat dalam meningkatkan kesuburan tanah.

Jamur saprofit juga penting dalam fermentasi industri, misalnya pembuatan bir, minuman anggur, dan

produksi antibiotik seperti penisilin. Selain bermanfaat bagi manusia, jamur juga dapat merugikan seperti membusukkan makanan, tekstil, kayu, dan lain-lain.

Jamur dapat lebih bertahan dalam keadaan alam sekitar yang tidak menguntungkan dibandingkan dengan jasad-jasad renik lainnya. Sebagai contoh, khamir dan kapang dapat tumbuh dalam suatu substrat atau medium berisikan konsentrasi gula yang dapat menghambat pertumbuhan kebanyakan bakteri; inilah sebabnya mengapa selai dan manisan dapat dirusak oleh jamur tetapi tidak dapat dirusak oleh bakteri. Khamir dan kapang umumnya dapat bertahan terhadap keadaan yang lebih asam daripada kebanyakan mikroba yang lain.

Khamir (berbentuk sel) bersifat fakultatif, artinya mereka dapat hidup baik dalam keadaan aerobik maupun keadaan anaerobik. Kapang (berbentuk benang) adalah mikroorganisme aerobik sejati. Jamur dapat memanfaatkan berbagai macam bahan untuk nutrisinya. Berbeda dengan bakteri, jamur tidak dapat menggunakan senyawa karbon anorganik seperti karbon dioksida. Karbon harus berasal dari sumber organik, misalnya glukosa.

Metabolisme ialah semua reaksi kimiawi yang dilakukan oleh sel dan menghasilkan energi, energi tersebut dipergunakan lagi untuk sintesis komponen-komponen sel dan untuk kegiatan selular, seperti



pergerakan. Reaksi kimiawi yang membebaskan energi melalui perombakan nutrien disebut *reaksi disimilasi* atau *peruraian*; jadi merupakan kegiatan katabolik sel. Sedangkan reaksi kimiawi yang menggunakan energi untuk sintesis dan fungsi-fungsi sel lainnya disebut *reaksi asimilasi* atau *anabolik*.

Bila sel merombak ikatan-ikatan kimiawi tertentu selama metabolisme, energi yang dilepaskan dipergunakan untuk melangsungkan sintesa biologis. Mikroorganisme autotrofik nonfotosintetik memperoleh energinya dari senyawa organik.

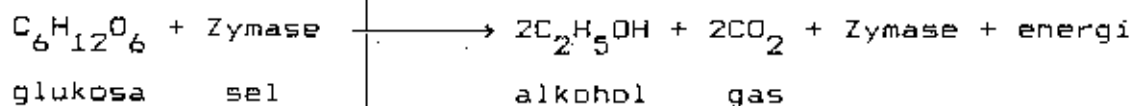
Organisme anaerobik menghasilkan energi melalui reaksi-reaksi yang disebut fermentasi yang menggunakan bahan organik sebagai donor dan akseptor elektron. Organisme anaerobik fakultatif dan obligat menggunakan berbagai macam fermentasi untuk menghasilkan energi.

Pada tipe-tipe fermentasi karbohidrat lainnya tahap-tahap disimilasi glukosa seringkali, tetapi tidak selalu, mengikuti glikolisis. Perbedaan dalam tipe-tipe fermentasi biasanya terletak pada penggunaan asam piruvat yang terbentuk. Jadi asam piruvat adalah pusat fermentasi karbohidrat.

Melalui proses fermentasi gula oleh sel-sel ragi akan dihasilkan alkohol sebagai hasil akhir. Ada empat kelompok ragi yang terlibat dalam proses fermentasi berdasarkan

tipe gula yang disintesa. Kelompok pertama memfermentasi dekstrosa, maltosa dan sukrosa; kelompok kedua memfermentasi dekstrosa dan sukrosa; kelompok ketiga hanya memfermentasi dekstrosa; dan kelompok keempat hanya memfermentasi laktosa. Sel-sel ragi mengeluarkan enzim-enzim zymase dan invertase. Enzim zymase merupakan intraselular dan enzim invertase ekstraselular.

*Saccharomyces cerevisiae* dan *S. ellipsoideus* merupakan spesies ragi yang banyak dipakai dalam industri. Dari hasil aktivitas glukosa dihasilkan alkohol dan  $\text{CO}_2$  serta sejumlah energi. Sukrosa dirubah menjadi glukosa dan fruktosa oleh enzim invertase. Reaksi keseluruhan fermentasi tersebut dapat dituliskan sebagai berikut:



Proses fermentasi alkohol dapat terjadi baik pada kondisi aerob maupun anaerob. Akan tetapi kecepatan reaksi akan turun dalam kondisi aerob. Pertumbuhan ragi akan dipercepat pada kondisi aerob, sementara itu kebutuhan gula akan menurun. Pada kondisi anaerob terjadi proses kebalikannya. Louis Pasteur menunjukkan bahwa 1 gram ragi dapat dihasilkan dari 4 - 10 gram glukosa pada kondisi aerob. Sedangkan pada kondisi anaerob 1 gram ragi

dihasilkan dari 60 - 80 gram glukosa. Fenomena seperti ini disebut efek Pasteur.

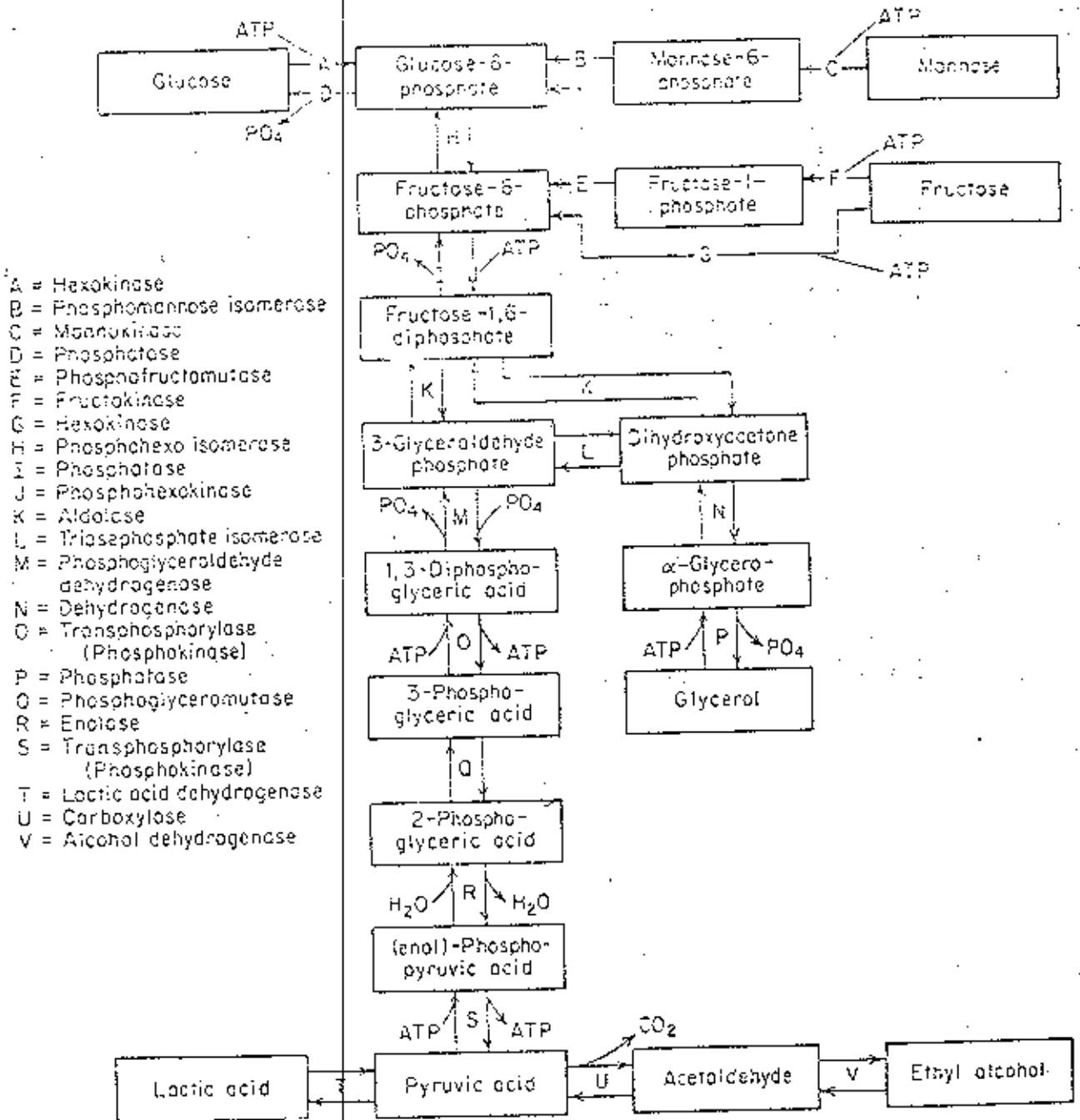
Mekanisme fermentasi alkohol menurut skematik Meyerhof-Embden meliputi 14 langkah dan melibatkan paling sedikit 15 enzim dan 3 koenzim seperti skema pada gambar 2.8. Keseluruhan enzim dan koenzim tersebut disebut *zymase* oleh Buchner. Enzim yang terlibat meliputi enzim untuk mengubah fosfat, oksidasi-reduksi, dekarboksilasi, dan isomerisasi; aldolase untuk memutar rantai karbon; dan mutase untuk mengubah ikatan fosfat.<sup>6</sup>

Sebagai hasil sampingan dari proses fermentasi di atas adalah sejumlah kecil D-amil alkohol, isoamil alkohol, asam suksinat, gliserol, dan beberapa senyawa lain.

D-amil alkohol dan isoamil alkohol diturunkan dari asam amino isoleusin dan leusin. Asam tersebut berasal dari bahan-bahan medium atau dari protein yang berasal dari sel ragi mati dan mengalami lisis. Reaksi ini hanya terjadi pada fermentasi karbohidrat.

Asam suksinat dihasilkan dari asam glutamat selama proses fermentasi alkohol. Asam glutamat tersebut dapat berasal dari nutrisi atau dari sel ragi yang mengalami lisis.

Gliserol dihasilkan selama proses fermentasi karbohidrat oleh ragi dalam jumlah yang relatif kecil.



Gambar 2.8 Skematik proses fermentasi alkohol oleh *S. cerevisiae*

### 2.3 ENZIM

Kegiatan kimiawi yang dilakukan oleh sel amatlah rumit. Hal ini mudah dimengerti bila mengingat demikian beragamnya bahan yang digunakan sebagai nutrien oleh sel di satu pihak dan berbagai ragam substansi yang disintesis menjadi komponen-komponen sel di pihak lain. Substansi yang ada dalam sel dengan jumlah yang amat kecil dan mampu menyebabkan terjadinya perubahan-perubahan yang berkaitan dengan proses-proses selular adalah *enzim*.

Enzim dapat berupa protein murni atau gabungan antara protein dengan gugusan-gugusan kimiawi lainnya. Seperti halnya semua protein, enzim akan terdenaturasikan oleh panas, terpresipitasikan oleh etanol atau garam-garam anorganik berkonsentrasi tinggi seperti amonium sulfat, dan tidak dapat melewati membran semipermeabel atau membran selektif; dengan perkataan lain tidak terdialisis. Protein enzim adalah molekul yang amat besar; berat molekulnya berkisar antara kurang lebih 10.000 sampai satu juta.

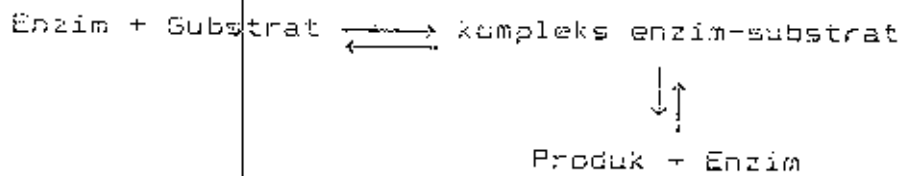
Sekalipun semua enzim pada mulanya dihasilkan di dalam sel, beberapa diekskresikan melalui dinding sel dan dapat berfungsi di luar sel. Jadi, dikenal dua tipe enzim: *enzim ekstraselular* atau *eksoenzim* dan *enzim intraselular* atau *endoenzim*.

Banyak enzim terdiri dari protein yang bergabung

dengan molekul organik dengan berat molekul rendah yang dinamakan *koenzim*. Bagian proteinnya disebut *apoenzim*. Bila bergabung, kedua bagian tersebut membentuk enzim yang lengkap, disebut *holoenzim*. Apoenzim bersifat tidak aktif, tersusun atas protein, berat molekul tinggi, dan tidak terdialisis. Koenzim bersifat tidak aktif, molekul organik, berat molekul rendah dan terdialisis. Sedangkan holoenzim bersifat aktif. Dalam beberapa hal, bagian nonprotein suatu enzim dapat berupa logam, misalnya besi pada enzim katalase. Jadi banyak enzim membutuhkan penambahan ion-ion logam ( $Mg^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ , dan lain-lain) untuk menjadi teraktivasi. Ion-ion ini dianggap sebagai koenzim anorganik atau *Kofaktor*.

Molekul-molekul enzim amatlah efisien dalam mempercepat pengubahan substrat menjadi produk akhir. Tetapi enzim bersifat tidak stabil. Aktivitasnya dapat berkurang dengan nyata atau hancur oleh berbagai kondisi fisik atau kimiawi. Dua ciri yang menonjol mengenai enzim ialah: (1) efisiensi katalitiknya yang tinggi dan (2) derajat kekhususannya yang tinggi terhadap substrat.

Kebanyakan reaksi enzim dapat dinyatakan dengan persamaan reaksi keseluruhan seperti pada gambar 2.9 berikut ini:



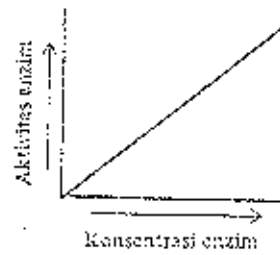
Gambar. 2.9 Reaksi enzim-substrat

Enzim (E) dan substrat (S) bergabung menjadi kompleks enzim-substrat ES<sub>0</sub> yang kemudian terurai menjadi produk (P). Enzimnya tidak dikonsumsi di dalam reaksi tersebut tetapi dilepaskan kembali untuk reaksi selanjutnya dengan molekul substrat yang lain. Proses ini diulang-ulang banyak sekali sampai semua molekul substansi yang tersedia habis terpakai.

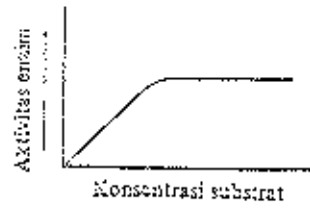
Fungsi utama suatu enzim ialah mengurangi hambatan energi aktivasi pada suatu reaksi kimiawi. Yang dimaksud dengan energi aktivasi ialah jumlah energi yang dibutuhkan untuk membawa suatu substansi ke status reaktifnya. Enzim bergabung dengan substrat membentuk suatu status transisi yang membutuhkan energi aktivasi lebih kecil untuk berlangsungnya reaksi kimiawi tersebut. Proses tersebut juga berlaku bagi substrat yang mengalami peruraian dan digunakan untuk memperoleh energi.

Keadaan-keadaan yang mempengaruhi aktivitas enzim di antaranya ialah: konsentrasi enzim, konsentrasi substrat, pH dan suhu seperti dijelaskan pada gambar 2.10 berikut ini.

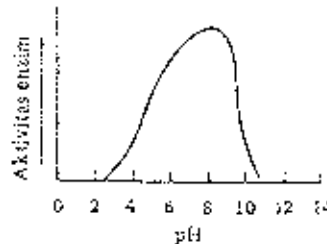
Pengaruh konsentrasi enzim pada laju aktivitas enzim. Dengan enzim-enzim yang derajat kemurniannya tinggi, di dalam batas-batas tertentu, terdapat suatu hubungan linear antara jumlah enzim dan taraf aktivitas. (Perhatikan bahwa aktivitas enzim merupakan ukuran lenyapnya reaktan atau munculnya produk dari reaksi yang dikatalisis).



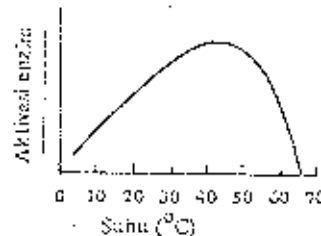
Pengaruh konsentrasi substrat pada laju aktivitas enzim. Perhatikan bahwa mula-mula laju naik dengan pesat dengan naiknya konsentrasi substrat. Kemudian konsentrasi substrat selanjutnya tidak berpengaruh pada laju; laju menjadi tidak bergantung pada konsentrasi substrat.



Pengaruh pH pada aktivitas enzim. Aktivitas maksimum dicapai pada suatu pH tertentu, dan penyimpangan-penyimpangan dari pH tersebut menyebabkan berkurangnya aktivitas. (Perhatikan bahwa tidak semua enzim memperlihatkan aktivitas optimum pada pH yang sama).



Pengaruh suhu pada aktivitas enzim. Mula pada suhu rendah, aktivitas enzim bertambah dengan naiknya suhu sampai aktivitas optimumnya dicapai. Kemudian suhu lebih lanjut berakibat dengan berkurangnya aktivitas dan pada akhirnya merusak enzim. (Perhatikan bahwa tidak semua enzim memperlihatkan aktivitas pada suhu yang sama).



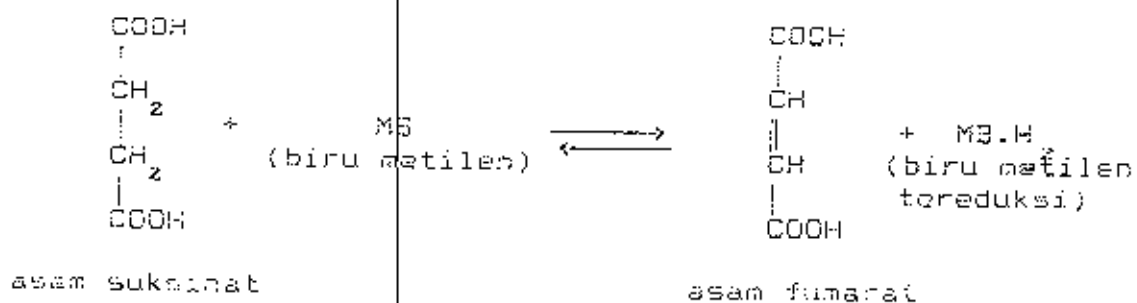
Gambar 2.10 Hubungan antara enzim dengan konsentrasi enzim, konsentrasi substrat, suhu dan pH



Aktivitas suatu enzim dapat dihambat (diperlambat atau dihentikan) oleh zat-zat kimiawi melalui berbagai cara. Hambatan enzim dapat dikelompokkan ke dalam jenis hambatan *non-reversibel* (tidak dapat balik) dan hambatan *reversibel* (dapat balik). Hambatan non-reversibel biasanya menyangkut modifikasi atau menjadi tidak aktifnya satu atau lebih gugusan fungsional enzim tersebut.

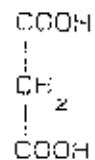
Hambatan reversibel dapat dibedakan menjadi dua, yaitu: hambatan *kompetitif* dan hambatan *non-kompetitif*. Hambatan kompetitif dapat dibalik dengan cara menambah konsentrasi substrat, sedangkan yang nonkompetitif tidak dapat. Berikut ini dikemukakan beberapa contoh.

Enzim suksinat dehidrogenase mewujudkan pemindahan atom-atom hidrogen dari asam suksinat kepada suatu senyawa akseptor yang sesuai; dalam reaksi yang tertera di bawah ini (Gambar 2.11), akseptornya adalah biru metilen, suatu senyawa yang tidak terdapat dalam sel secara alamiah.



Gambar 2.11 Contoh reaksi enzim substrat

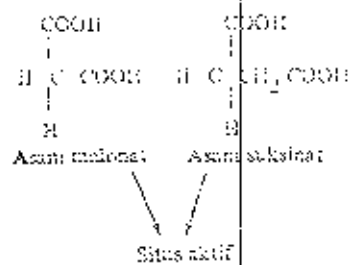
Reaksi ini dapat dihambat oleh senyawa-senyawa kimiawi yang mempunyai struktur yang serupa dengan asam suksinat. Salah satu penghambat adalah asam malonat, yang strukturnya seperti gambar 2.12 berikut ini:



Gambar. 2.12  
asam malonat

Karena strukturnya menyerupai asam suksinat, asam malonat mengikatkan dirinya pada situs enzim tempat asam suksinat umumnya terikat. Pengikatan asam suksinat dihalangi oleh asam malonat, tetapi karena asam malonat tidak diaktivasi oleh enzim tersebut, maka tidak terjadi reaksi. Dalam contoh ini terdapat kompetisi di antara kedua molekul yang berbeda itu untuk menempati situs yang sama pada enzim tersebut. Hambatan enzim semacam ini disebut hambatan kompetitif (seperti pada Gambar 2.13 berikut).

Zat-zat kimiawi tertentu mempunyai afinitas yang tinggi terhadap ion-ion logam, membentuk kompleks dengan logam. Seperti telah disebutkan, banyak enzim membutuhkan ion logam bagi aktivitasnya. Sianida adalah penghambat yang kuat bagi enzim yang mengandung besi karena dapat mengikat besi tersebut, jadi meniadakan komponen esensial enzim tersebut. Demikian pula, fluorida menghambat enzim



Hambatan kompetitif (ikometika) antara asam malonat dan asam sukcinat. Perhatikan bahwa setiap molekul mempunyai fragmen yang strukturnya serupa. Karena pada kedua molekul bagian tersebut cocok atau dapat bergabung dengan situs aktif pada permukaan enzim, maka terdapat persaingan antara kedua substrat tersebut untuk menempati situs ini. Karena enzim ini spesifik untuk asam sukcinat, maka bila asam malonat menempati situs tersebut, aktivitas selanjutnya terhambat karena asam malonat tidak diubah oleh enzim ini.

Gambar 2.13 Contoh hambatan kompetitif

yang memutuskan kalsium atau magnesium dengan cara mengikat logam-logam tersebut. Hambatan enzim semacam ini disebut non-kompetitif karena penghambatnya tidak bersaing dengan substrat untuk menempati situs aktif pada permukaan enzim.

## 2.4 PERTUMBUHAN

Populasi bakteri, ragi, protozoa dan alga yang ada di alam seperti di dalam tanah, air atau di udara berubah secara teratur bergantung pada kondisi lingkungannya. Jumlah mikroorganisme bervariasi secara tetap dan dapat diperkirakan dengan menggunakan hukum-hukum biologi yang umum.

#### 2.4.1 PERTUMBUHAN

Pertumbuhan jasad hidup dapat ditinjau dari dua segi, yaitu pertumbuhan sel secara individu dan pertumbuhan kelompok sebagai satu populasi.

*Pertumbuhan sel* diartikan sebagai adanya penambahan volume sel serta bagian-bagian sel lainnya, yang diartikan pula sebagai penambahan kuantitas isi dan kandungan di dalam selnya.<sup>14</sup>

*Pertumbuhan populasi* merupakan akibat dari adanya pertumbuhan individu, misal dari satu sel menjadi dua, dari dua menjadi empat, dan empat menjadi pertumbuhan populasi. Sehingga batas antara pertumbuhan sel sebagai individu serta satu kesatuan populasi yang kemudian terjadi kadang-kadang karena terlalu cepat perubahannya, sulit untuk diamati dan dibedakan.<sup>14</sup>

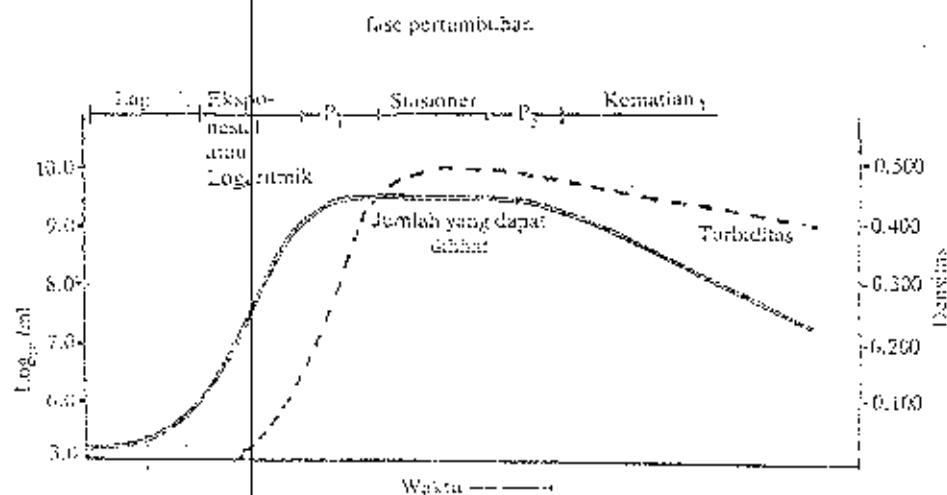
Pada pertumbuhan populasi bakteri misalnya, merupakan penggambaran jumlah atau massa sel yang terjadi pada saat tertentu. Kadang-kadang didapatkan bahwa konsentrasi sel sesuai dengan jumlah sel per unit volume, sedang kerapatan sel adalah jumlah materi per unit volume.

Misalnya dapat diketahui betapa kecepatan pertumbuhan dan perbanyakkan sel bakteri, sehingga di dalam waktu hanya 10 jam saja, dari 1 sel dapat berubah menjadi 1.048.576 sel kalau lingkungannya memungkinkan atau dalam keadaan optimal. Karena pertambahan jumlah yang sangat besar dalam

waktu yang relatif singkat, maka perhitungan jumlah tersebut dilakukan secara logaritmik. Ini mengingat bahwa pada stadia atau fase lag, yaitu fase awal di mana pertumbuhan belum dimulai yang meningkat sampai ke fase selanjutnya terutama fase stationer dengan penambahan jumlah yang sangat cepat maka perhitungan selanjutnya dapat digambarkan secara logaritmik ataupun aritmetik.

#### 2.4.2 KURVA PERTUMBUHAN

Penambahan dan pertumbuhan jumlah sel mikroorganisme pada umumnya dapat digambarkan dalam bentuk kurva pertumbuhan (gambar 2.14).



Gambar 2.14 Kurva pertumbuhan mikroorganisme

Kurva tersebut merupakan penjabaran dari penambahan jumlah sel dalam waktu tertentu, misalnya suatu

mikroorganisme berjumlah  $b$  pada saat awal, maka:

- pada regenerasi pertama,  $b = 1 \times 2$
- pada regenerasi kedua,  $b = 1 \times 2^2$
- pada regenerasi ke- $n$ ,  $b = 1 \times 2^n$

sehingga jumlah sel pada saat akhir adalah:  $b = a \times 2^n$ .

Dengan perhitungan logaritma jumlah regenerasi sel dirumuskan sebagai berikut:<sup>14</sup>

$$n = \log(N_t/N_0)/\log 2$$

di mana,  $n$  = jumlah regenerasi

$n_0$  = jumlah sel pada saat awal

$n_t$  = jumlah sel pada saat akhir pengamatan

Sedangkan waktu regenerasi dapat ditentukan sebagai berikut:<sup>14</sup>

$$g = t/n$$

$$k = 1/g$$

di mana,  $g$  = waktu generasi (jam, menit)

$t$  = interval waktu (jam, menit)

$n$  = jumlah regenerasi

$k$  = laju pertumbuhan sel (/jam, /menit)

Pengaruh logam berat terhadap pertumbuhan mikroorganisme dapat dihitung sebagai berikut:

$$\% I = (1 - k_0/k_1) \times 100\%$$

di mana,  $\%I$  = persentase penghambatan

$k$  = laju pertumbuhan sel (/jam, /menit)

#### 2.4.3 BENTUK KURVA

Kurva pertumbuhan jasad hidup, khususnya mikroorganisme merupakan gambaran dari fase pertumbuhan secara bertahap sejak awal hingga berhenti mengadakan aktivitas. Kurva ini umumnya terbagi ke dalam beberapa fase pertumbuhan, yaitu:

##### *(1) Fase lag*

Selama fase ini perubahan bentuk dan pertumbuhan jumlah individu tidak secara nyata terlihat. Karena fase ini dapat juga dinamakan sebagai fase adaptasi (penyesuaian) ataupun fase pengaturan jasad untuk suatu aktivitas di dalam lingkunganyang mungkin baru. Sehingga grafik selama fase ini umumnya mendatar.

##### *(2) Fase eksponensial (logaritmik)*

Setelah setiap individu menyesuaikan diri dengan lingkungan baru selama fase lag, maka mulailah mengadakan perubahan bentuk dan meningkatkan jumlah individu (sel) sehingga kurva meningkat dengan tajam (menanjak). Peningkatan ini harus diimbangi dengan banyak faktor, antara lain:

- a. Faktor biologis, yaitu bentuk dan sifat jasad terhadap lingkungan yang ada, serta asosiasi kehidupan di antara jasad yang ada kalau jumlah jenis lebih dari sebuah.

b. Faktor non-biologis, antara lain kandungan sumber nutrisi di dalam media, suhu, kadar oksigen, cahaya, dan lain-lain.

Kalau faktor-faktor di atas optimal, maka peningkatan kurva akan nampak tajam seperti gambar.

(3) *Fase pengurangan pertumbuhan*

Berupa keadaan puncak dari fase logaritmik sebelum mencapai fase stasioner, di mana penambahan jumlah individu mulai berkurang atau menurun yang disebabkan oleh banyak faktor, antara lain berkurangnya sumber nutrisi di dalam media, tercapainya jumlah kejenuhan pertumbuhan jasad dan sebagainya.

(4) *Fase stasioner*

Pengurangan sumber nutrisi serta faktor-faktor yang terkandung di dalam jasadnya sendiri, maka sampailah puncak aktivitas pertumbuhan kepada titik yang tidak bisa dilampaui lagi. Sehingga selama fase ini, gambaran grafik akan mendatar. Populasi jasad hidup di dalam keadaan yang maksimal stasioner yang konstan disebut dalam konsentrasi (M).

(5) *Fase kematian*

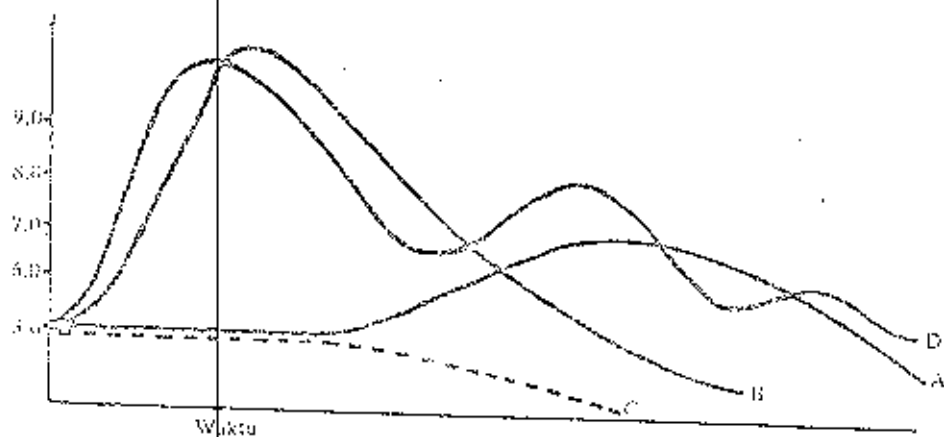
Ini merupakan akhir dari suatu kurva di mana jumlah



individu secara tajam akan menurun sehingga grafik tampaknya akan kembali ke titik awal lagi.

#### 2.4.4 PENYIMPANGAN KURVA

Ternyata bahwa gambaran kurva pertumbuhan mikroorganisme tidak lancar seperti yang sudah diterangkan kalau faktor-faktor lingkungan yang menyertainya tidak memenuhi persyaratan. Beberapa penyimpangan yang sering terjadi pada gambaran kurva tersebut dapat diterangkan sebagai berikut (gambar 2.15):



Gambar 2.15 Pengaruh lingkungan terhadap kurva pertumbuhan

- (1) Kurva A: Menunjukkan terdapatnya fase lag yang cukup lama sebelum mikroorganisme dapat tumbuh dan bertambah.

- (2) Kurva B: Menunjukkan tidak adanya fase lag, karena begitu ditanamkan, maka pertumbuhan mikroorganisme dapat langsung ke fase logaritmik.
- (3) Kurva C: Menunjukkan fase lag yang panjang atau lama serta tidak dapat menyesuaikan diri dengan lingkungannya yang baru (mati).
- (4) Kurva D: Adalah gambaran suatu kurva pertumbuhan mikroorganisme yang secara terus menerus diberi tambahan sumber nutrisi sehingga ada kesinambungan pertumbuhan walau maik lama mengarah kepada penurunan.

#### 2.4.5 FAKTOR LINGKUNGAN

Untuk pertumbuhan jasad hidup, termasuk di dalamnya mikroorganisme banyak faktor lingkungan yang akan berpengaruh. Sehingga dengan adanya faktor lingkungan tersebut akan memberikan jumlah peningkatan atau populasi keseluruhan yang berbeda dan akhirnya mempengaruhi gambaran kurva pertumbuhan yang berlainan pula.

Faktor lingkungan yang berpengaruh adalah:

a. Faktor biotik, menyangkut di dalamnya:

- bentuk jasad
- sifat jasad, terutama di dalam kehidupannya, apakah toleran terhadap suatu perubahan yang tiba-tiba ada

atau timbul, baik yang datang dari lingkungannya yang bersifat hidup (sesama mikroorganisme) ataupun yang berasal dari lingkungan abiotik.

- kemampuan jasad untuk menyesuaikan diri dan tumbuh berkembang.

5. Faktor abiotik, menyangkut di dalamnya:

- susunan dan jumlah senyawa di dalam media yang akibat adanya pertumbuhan akan berkurang.
- faktor-faktor luar yang menyertainya, seperti suhu, cahaya, kelembaban, dan lain-lain.
- kehadiran senyawa yang mungkin dapat bersifat toksik atau meracun terhadap jasad tersebut, baik yang datang dari luar maupun diakibatkan oleh aktivitas jasad menyebabkan perubahan pH dan C/N rasio media.

## 2.5 PERHITUNGAN

Untuk membuat kurva pertumbuhan, sebelumnya diperlukan perhitungan. Cara perhitungan yang paling umum adalah dengan:

1. Pengenceran
2. Penggunaan ruang hitung
3. Penggunaan turbidometer/nefelometer

### 2.5.1 DENGAN PENGENCERAN

Metode ini dilakukan dengan mengencerkan suspensi

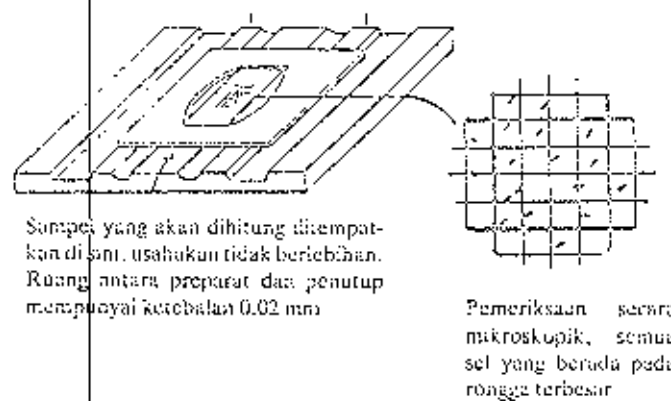
mikroorganisme. Suspensi tersebut diinokulasikan pada media padat yang sesuai. Media tersebut harus cukup mengandung nutrisi selama waktu pengamatan. Metode ini sesuai untuk jenis mikroorganisme yang dapat membentuk koloni pada media padat. Jumlah koloni yang terhitung adalah jumlah sel yang hidup.

Keuntungan metode ini adalah murah dan mudah tanpa harus menggunakan peralatan khusus yang kadang-kadang mahal, serta dari koloni biakan yang tumbuh dapat diteruskan untuk pengamatan ataupun penelitian yang lebih lanjut.

#### 2.5.2 PENGGUNAAN RUANG HITUNG

Metode ini dilakukan untuk menghitung langsung jumlah mikroorganisme yang terdapat dalam suatu suspensi dengan menggunakan ruang hitung. Hasil pengenceran tidak ditamamkan ke dalam cawan berisi media, tetapi diteteskan ke dalam ruang penghitung. Pemeriksaan selanjutnya dilakukan di bawah mikroskop terhadap sel mikroorganisme yang terdapat di dalam kolom-kolom penghitung (gambar 2.16).

Keuntungan metode ini yaitu semua sel mikroorganisme akan terhitung secara langsung. Sedangkan kerugiannya adalah kesalahan perhitungan yang terjadi karena suspensi tidak homogen lagi.



Gambar 2.16 Ruang hitung

### 2.5.3 PENGGUNAAN TURBIDOMETER/ NEFELOMETER

Cara ini merupakan perhitungan kerapatan suatu materi (sel) di dalam larutan, yang diberi cahaya. Kualitas bias cahaya yang dilakukan identik dengan kerapatan materi sel yang berada dalam larutan. Kelemahan cara ini ialah sel-sel yang telah mati mengalami lisis sehingga akan menambah kekeruhan larutan. Kekeruhan yang makin besar menyebabkan sinar yang diserap akan semakin besar pula.

### 2.6 LINGKUNGAN HIDUP

Aktivitas mikroorganisme dipengaruhi oleh lingkungan. Perubahan yang terjadi di dalam lingkungan dapat mengakibatkan perubahan sifat morfologi dan sifat fisiologi mikroorganisme. Beberapa golongan sangat tahan

terhadap perubahan lingkungan, sehingga cepat dapat menyesuaikan diri dengan kondisi baru. Ada pula golongan mikroorganisme yang sama sekali peka dengan kondisi baru.

Faktor lingkungan penting artinya di dalam usaha mengendalikan kegiatan mikroorganisme baik untuk kepentingan proses ataupun pengendalian.

#### 2.6.1 FAKTOR ABIOTIK

##### (1) Suhu

Suhu merupakan salah satu faktor yang penting di dalam kehidupan. Beberapa jenis mikroorganisme dapat hidup pada daerah suhu yang luas sedang jenis lainnya pada daerah yang terbatas. Pada umumnya batas daerah suhu bagi kehidupan mikroorganisme terletak di antara  $0^{\circ}\text{C}$  -  $90^{\circ}\text{C}$ , sehingga untuk masing-masing mikroorganisme dikenal nilai suhu minimum, optimum dan maksimum.

*Suhu minimum* suatu jenis mikroorganisme ialah paling rendah di mana kegiatan mikroorganisme masih berlangsung. *Suhu optimum* adalah nilai yang paling sesuai untuk kehidupan mikroorganisme. *Suhu maksimum* adalah nilai tertinggi yang masih dapat digunakan untuk aktivitas mikroorganisme, tetapi pada tingkatan kegiatan fisiologi yang paling minimal.

Berdasarkan daerah aktivitas suhu, mikroorganisme dibagi menjadi tiga golongan, yaitu:<sup>14</sup>

- a. Mikroorganisme psikrofilik (kryofilik) adalah golongan mikroorganisme yang dapat tumbuh pada daerah suhu antara  $0 - 30^{\circ}\text{C}$ , dengan suhu optimum  $15^{\circ}\text{C}$ . Kebanyakan dari golongan ini tumbuh di tempat-tempat dingin, baik di daratan ataupun di lautan.
- b. Mikroorganisme mesofilik adalah golongan mikroorganisme yang mempunyai suhu optimum pertumbuhan antara  $25^{\circ}\text{C}$  sampai  $37^{\circ}\text{C}$ , suhu minimum  $15^{\circ}\text{C}$  dan suhu maksimum di sekitar  $55^{\circ}\text{C}$ . Umumnya hidup di dalam alat pencernaan, kadang-kadang ada juga yang dapat hidup dengan baik pada suhu  $40^{\circ}\text{C}$  atau lebih.
- c. Mikroorganisme termofilik adalah golongan mikroorganisme yang dapat tumbuh pada daerah suhu tinggi, dengan suhu optimum antara  $55^{\circ} - 60^{\circ}\text{C}$ , minimum  $40^{\circ}\text{C}$ , sedangkan maksimum  $75^{\circ}\text{C}$ . Golongan ini terutama terdapat di dalam sumber-sumber air panas dan tempat lain yang bersuhu lebih tinggi dari  $55^{\circ}\text{C}$ .

Telah diketahui bahwa di dalam reaksi kimia kenaikan suhu akan menaikkan kecepatan reaksi. Biasanya tiap kenaikan  $10^{\circ}$  dapat mempercepat reaksi antara 2 - 3 kali lipat.

Karena di dalam proses metabolisme terjadi suatu rangkaian reaksi kimia, maka kenaikan sampai pada nilai batas tertentu, dapat mempercepat proses metabolisme. Tetapi suhu tinggi melebihi suhu maksimum akan menyebabkan

denaturasi protein dan enzim. Ini akan mengakibatkan terhentinya proses metabolisme. Dengan nilai suhu yang melebihi maksimum, mikroorganisme akan mengalami kematian. Untuk ini dikenal beberapa istilah, antara lain: titik kematian termal suatu jenis mikroorganisme ialah nilai suhu yang dapat mematikan jenis tersebut di dalam waktu 10 menit pada kondisi tertentu. Sedang waktu kematian termal ialah waktu yang diperlukan untuk membunuh suatu jenis mikroorganisme pada suatu suhu yang tetap.

Kedua istilah tersebut mempunyai arti yang penting di dalam praktek terutama di dalam industri pengawetan bahan makanan dan obat-obatan.

Faktor-faktor yang mempengaruhi titik kematian termal antara lain ialah waktu, kelembaban, bentuk dan jenis spora, umur mikroorganisme, pH dan komposisi medium.

Kelembaban pada suhu tinggi mempercepat koagulasi protein. Misalnya spora *Bacillus anthracis* pada suhu  $160^{\circ}\text{C}$ , dalam keadaan kering mati setelah 90 menit, sedang pada suhu  $100^{\circ}\text{C}$  dalam keadaan lembab mati setelah 10 menit.

Spora bakteri dapat membertahan diri di dalam lingkungan yang jelek. Karenanya dapat dimengerti mengapa jumlah spora per ml akan mempengaruhi waktu proses pembunuhan spora. Misalnya untuk mematikan spora *Clostridium botulinum* pada suhu  $105^{\circ}\text{C}$ , maka jumlah waktu

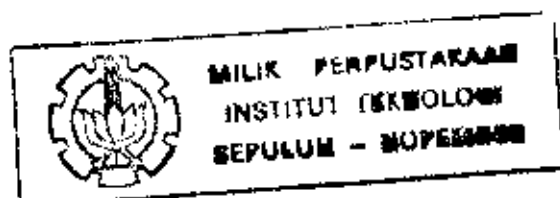


yang diperlukan tergantung pada jumlah spora per volume (ml). Jika jumlah spora per ml mencapai 900 juta, diperlukan waktu 56 menit. Tetapi jika 9 juta diperlukan waktu 68 menit, sedang untuk 900 spora hanya diperlukan waktu 24 menit.<sup>14</sup>

Pada umumnya untuk membunuh mikroorganisme dengan pemanasan lebih mudah pada reaksi medium asam atau alkalis, kalau dibandingkan dengan medium netral. Karena di dalam keadaan netral waktu pemanasan yang diperlukan untuk membunuh akan lebih lama.

Komposisi medium juga mempengaruhi kepekaan bakteri terhadap pemanasan. Adanya partikel atau benda padat dan senyawa tertentu di dalam medium akan menaikkan resistensi mikroorganisme terhadap panas, sebab penetrasi panas ke dalam medium terhalang oleh adanya benda atau zat tadi. Temperatur rendah menyebabkan gangguan pada metabolisme, jenisnya tergantung kepada suhu dan cara perlakuan.

Kematian mikroorganisme pada suhu rendah disebabkan oleh terjadinya perubahan keadaan koloidal protoplasma yang tidak reversibel. Penurunan suhu yang tiba-tiba di atas titik beku dapat menyebabkan kematian, akan tetapi penurunan suhu secara bertingkat hanya menghentikan kegiatan metabolisme untuk sementara saja. Bila suspensi bakteri didinginkan dengan cepat dari 45° C, maka jumlah bakteri yang mati dapat mencapai 95%, tetapi pendinginan



secara bertingkat menyebabkan jumlah kematian tersebut akan berkurang.

Kematian akibat penurunan suhu yang tiba-tiba, mungkin karena air menjadi tidak siap untuk kegiatan fisiologi. Misalnya pada pembekuan, mungkin terjadi kerusakan sel oleh adanya kristal es di dalam air antar sel. Proses pendinginan di bawah titik beku dan di dalam keadaan hampa udara secara bertingkat, banyak digunakan untuk mengawetkan biakan dan proses tersebut disebut *lyofilisasi*. Hasil *lyofilisasi* merupakan tepung yang terdiri atas sel yang *lyofilik* dan sangat mudah menarik air, juga tidak menyebabkan denaturasi protein sebab molekul air protoplasma di dalam proses ini langsung dirubah menjadi uap air tanpa melalui fase cair.

## *(2) Kelembaban*

Mikroorganisme mempunyai nilai kelembaban optimum. Pada umumnya untuk pertumbuhan ragi dan bakteri diperlukan kelembaban yang tinggi di atas 85%, sedang untuk jamur dan aktinomiset diperlukan kelembaban yang rendah di bawah 80%. Kadar air bebas di dalam larutan ( $a_w$ ) merupakan nilai perbandingan antara tekanan uap air larutan dengan tekanan uap air murni, atau 0,01 dari kelembaban relatif. Nilai  $a_w$  untuk bakteri pada umumnya terletak di antara 0,9 - 0,999 sedang untuk bakteri halofilik mendekati 0,75.

Banyak mikroorganisme yang tahan hidup di dalam keadaan kering untuk waktu yang lama, seperti dalam bentuk spora, konidia, artrospora, kiamidospora dan kista.

Seperti halnya pada pembekuan, proses pengeringan protoplasma menyebabkan kegiatan metabolisme terhenti. Pengeringan secara perlahan-lahan menyebabkan kerusakan sel akibat pengaruh tekanan osmose dan pengaruh lainnya dengan naiknya kadar zat terlarut.

### (3) Tekanan osmose

Pada umumnya larutan hipertonis menghambat pertumbuhan karena dapat menyebabkan plasmolisis. Tekanan osmose tinggi banyak digunakan di dalam praktek untuk pengawetan bahan-bahan makanan, seperti pengawetan ikan dengan penambahan garam, untuk pengawetan buah-buahan dengan penambahan gula.

Beberapa mikroorganisme dapat menyesuaikan diri terhadap kadar garam atau kadar gula yang tinggi, antara lain ragi yang osmofil (dapat tumbuh pada kadar garam tinggi), bahkan beberapa mikroorganisme dapat tahan di dalam substrat dengan kadar garam sampai 30%, golongan ini bersifat halodurik.

Batas pH untuk pertumbuhan jasad merupakan suatu gambaran dari batas pH bagi kegiatan enzim. Untuk tiap jasad dikenal nilai pH minimum, optimum dan maksimum.

Bakteri memerlukan nilai pH antara 6,5 - 7,5; ragi antara 4 - 6; sedang jamur dan aktinomiset tertentu mempunyai daerah pH yang luas.<sup>14</sup>

Atas dasar daerah-daerah pH bagi kehidupan mikroorganisme dibedakan adanya 3 golongan besar, yaitu:

- a. Mikroorganisme yang asidofilik, yaitu jasad yang dapat tumbuh pada pH antara 2,0 - 5,0.
- b. Mikroorganisme yang mesofilik (neutrofilik), yaitu jasad yang dapat tumbuh pada pH antara 5,5 - 8,0.
- c. Mikroorganisme yang alkalifilik, yaitu jasad yang dapat tumbuh pada pH antara 8,4 - 9,5.

#### (4) Radiasi

Umumnya cahaya mempunyai daya merusak kepada sel mikroorganisme yang tidak mempunyai pigmen fotosintesis. Sedang cahaya dengan gelombang pendek dapat berpengaruh terhadap jasad hidup. Cahaya dengan gelombang panjang juga mempunyai daya fotodinamik dan daya biofisik, misalnya cahaya matahari. Jika energi radiasi diabsorpsi oleh sel mikroorganisme akan menyebabkan terjadinya ionisasi komponen sel. Ionisasi molekul tertentu dari protoplasma dapat menyebabkan kematian, perubahan genetik ataupun dapat pula menghambat pertumbuhan. Energi radiasi dari sinar X, sinar  $\gamma$  dan terutama sinar ultraviolet banyak digunakan di dalam praktek sterilisasi, pengawetan bahan

makanan dan untuk mendapatkan mutan.

#### (5) Senyawa toksik

Ion-ion logam berat seperti Hg, Ag, Cu, Au, Zn, Li dan Pb walaupun pada kadar yang sangat rendah akan bersifat toksik terhadap mikroorganisme karena ion-ion logam berat dapat bereaksi dengan gugus senyawa sel. Daya bunuh logam berat pada kadar rendah disebut *daya oligodinamik*. Misalnya,  $\text{Hg}^{2+}$  yang bergabung dengan gugus-gugus sulfidril ( $-\text{SH}$ ) pada enzim, akan menghambat kegiatan enzim tersebut. Beberapa kation seperti  $\text{Li}^+$  dan  $\text{Zn}^{2+}$  bersifat toksik terhadap bakteri, sehingga akibatnya kegiatan enzim terhenti, karena kation semacam ini bersifat antagonis terhadap  $\text{H}^+$ . Apabila nilai pH dinaikkan maka peracunan  $\text{Li}^+$  dan  $\text{Zn}^{2+}$  dapat dikurangi, sehingga antagonisme ini dapat berbalik.

Anion seperti sulfat, tartrat, klorida, nitrat dan benzoat, mempengaruhi kegiatan fisiologi mikroorganisme. Karena adanya perbedaan sifat fisiologi yang besar pada masing-masing mikroorganisme maka sifat meracun dari anion tadi juga berbeda-beda.

Sifat meracun alkali juga berbeda-beda, tergantung kepada jenis logamnya. Misalnya pada kadar  $-\text{OH}$  yang sama dari larutan  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  dan  $\text{NaOH}$ , ternyata  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  lebih toksik dibandingkan dengan larutan  $\text{NaOH}$  sebab  $\text{Ba}^{2+}$

bersifat lebih toksik dari  $\text{Na}^+$ . Juga beberapa senyawa asam organik seperti asam benzoat, asetat dan sorbat dapat digunakan sebagai zat pengawet di dalam industri bahan makanan. Sifat meracun ini bukan disebabkan oleh karena pH, tetapi merupakan akibat langsung dari molekul asam organik tersebut terhadap gugus-gugus di dalam sel.

Arus listrik bolak-balik ataupun searah yang bertegangan tinggi dapat menyebabkan elektrolisis bahan penyusun medium. Arus listrik dapat juga menghasilkan panas yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme. Maka karena sel di dalam suspensi akan mengalami elektroforesis kalau dilalui arus listrik, maka kehidupan mikroorganisme akan terganggu.

#### (6) Tegangan muka

Tegangan muka mempengaruhi cairan sehingga permukaannya akan menyerupai membran yang elastis, sehingga dapat mempengaruhi kehidupan mikroorganisme.

Protoplasma mikroorganisme terdapat di dalam sel yang dilindungi dinding sel. Dengan adanya perubahan bahan pada tegangan muka dinding sel, akan mempengaruhi permukaan protoplasma, yang akibatnya dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perubahan bentuk morfologinya. Senyawa seperti sabun dan deterjen dapat mengurangi tegangan permukaan, karena senyawa ini dapat diabsorpsi pada permukaan interfasiol,

yaitu permukaan antara udara dan cairan sehingga menaikkan kemampuan air untuk membasahnya, seperti oleh Tween-80, Triton A<sub>20</sub>, dan lain-lain.

Bakteri yang hidup di dalam alat pencernaan dapat berkembang biak di dalam medium yang mempunyai tegangan permukaan relatif rendah, tetapi kebanyakan lebih menyukai tegangan permukaan yang relatif tinggi.

#### (7) Tekanan hidrostatik dan mekanik

Beberapa jenis mikroorganisme dapat hidup di dalam Samudra Pasifik dengan tekanan lebih dari 1208 kg tiap cm persegi, dan kelompok ini disebut barofilik. Selain itu tekanan yang tinggi akan menyebabkan meningkatnya beberapa reaksi kimia, pengecilan volume koloid organik enzim, molekul, dan juga menaikkan viskositas cairan serta disosiasi elektrolit. Sedang tekanan di atas 7500 kg/cm<sup>2</sup> dapat menyebabkan denaturasi protein. Perubahan-perubahan ini mempengaruhi proses biologi sel jasad hidup.

#### 2.6.2 FAKTOR BIOTIK<sup>12</sup>

Di dalam alam jarang sekali ditemukan kehadiran jasad yang hidup sebagai biakan murni, tetapi selalu berada di dalam asosiasi dengan jasad-jasad lain. Berbagai macam asosiasi di antara mikroorganisme mulai dari bentuk asosiasi yang sangat erat sampai dengan bentuk asosiasi

yang sangat renggang.

Simbiosis adalah asosiasi di antara dua atau lebih jasad, di mana sedikitnya satu jenis mendapatkan keuntungan, sedang jenis yang lainnya mungkin mengalami kerugian, atau mungkin keuntungan.

Berdasarkan kepada bentuk dan sifat simbiosis jasad hidup dapat dibagi ke dalam beberapa golongan yaitu:<sup>14</sup>

- a. Komensalisme adalah asosiasi di mana satu pihak mendapat keuntungan sedangkan pihak lain tidak mendapat kerugian.
- b. Mutualisme adalah bentuk asosiasi di mana masing-masing pihak mendapat keuntungan. Misalnya, mutualisme antara bakteri *Rhizobium* dengan polong-polongan. Hubungan pada mutualisme sangat erat, di mana jasad yang berasosiasi sangat tergantung antara satu dengan yang lainnya.
- c. Parasitisme adalah bentuk asosiasi antara parasit dan inangnya. Di mana parasit mendapat keuntungan sedangkan inangnya mengalami kerugian. Misalnya antara tumbuhan inang dengan tanaman benalu atau tanaman tali putri.
- d. Antibiosis adalah bentuk asosiasi kehidupan yang menyebabkan salah satu pihak di dalamnya akan terbunuh atau terhambat pertumbuhannya yang diakibatkan oleh senyawa yang dihasilkan jasad lainnya. Peristiwa antibiosis sebenarnya merupakan suatu cara dari jasad



untuk melindungi diri. Mekanisme perlindungan semacam ini ialah akibat terbentuknya hasil metabolisme, baik yang merupakan hasil sisa ataupun yang merupakan hasil sintesis. Hasil ini dapat berupa senyawa asam atau senyawa lain yang dapat merubah faktor lingkungannya. Senyawa hasil sintesis dapat bersifat racun, seperti toksin dan antitoksin.

- e. Sinergisme adalah bentuk asosiasi kehidupan yang menyebabkan terjadinya kemampuan untuk melakukan perubahan kimia di dalam substrat.
- f. Sintropisme adalah kegiatan bersama dari jasad terhadap sumber nutrisi. Proses ini penting di dalam peruraian bahan organik tanah dan di dalam proses pengolahan air buangan. Misalnya sintropisme di antara jasad A, B, C, D dan E di dalam penguraian zat X. Zat X hanya dapat diuraikan sedikit oleh jasad A, tetapi hasil pemecahannya dapat merangsang perkembangan jasad B, yang selanjutnya menghasilkan zat yang diperlukan oleh jasad C, dan seterusnya hingga pada akhirnya jasad E juga dirangsang dengan menghasilkan senyawa yang merangsang jasad A, bahkan rangsangan terhadap jasad A itu memungkinkan A untuk mengasimilasi (menguraikan) zat X lebih mudah. Jadi hasil sintropisme antara A, B, C, D, dan E ialah perkembangan yang pesat dari masing-masing jasad dan terurainya zat X.

## 2.7 PENGARUH TOKSISITAS LOGAM BERAT TERHADAP MIKROORGANISME

### 2.7.1 INTERAKSI LOGAM-MIKROORGANISME<sup>2, 10, 13</sup>

Mikroorganisme sangat sensitif terhadap pencemaran logam. Sensitivitas mikroorganisme terhadap logam tampak pada hal-hal sebagai berikut:

#### 2.7.1.a. Pengaruh pada pertumbuhan dan kelangsungan hidup

Fase lag dari *Arthrobacter marinus* berubah dari 3 jam menjadi 70 jam karena adanya  $4 \cdot 10^{-4} M$  Ni (Cobet et al., 1970); 50, 250, dan 25000 ppb ( $\mu g/l$ ) Zn di dalam air laut dapat mereduksi pertumbuhan *Skletonema costatus*, *Thalassiosira pseudonana*, dan *Phaeodactylum tricornutum* (Jensen et al., 1974).

#### 2.7.1.b. Pengaruh pada morfologi

Adanya Cd sebesar 0,001 ppm dapat menyebabkan perubahan bentuk rangkaian sel *Tabellaria flocculosa* dari bentuk zig-zag menjadi lurus (Adshead-Simonsen et al., 1981); alga hijau, *Ankistrodesmus braunii*, menghasilkan sel berukuran besar dengan dinding sel yang tebal ketika tumbuh di media yang mengandung  $10^{-4} M$  Cu (Massalski et al., 1981).

#### 2.7.1.c. Pengaruh pada aktivitas biokimia

Cd sebesar 1 ppm menghalangi fotosintesis dan 2 ppm

Cd menghalangi fiksasi nitrogen *Anabaena cylindrica* (Delmotte, 1980); 0,005 ppm Zn menghalangi fiksasi nitrogen *Anabaena spiroides* (Kostyaev, 1980); 15-18 ppm Pb mereduksi fotosintesis alga, *Chlamydomonas reinhardtii* (Malanchuk dan Gruending, 1973); dan 5 ppb Cu menurunkan fotosintesis mikroorganisme laut *Scrippsiella faeroense* (Saifullah, 1978).

Fotosintesis komunitas phytoplankton di perairan pantai terhalangi dengan adanya 1 - 2,5 ppb Cu dan 15 ppb Zn (Davies dan Sleep, 1979, 1980); fotosintesis komunitas phytoplankton di air payau berkurang karena adanya 0,1 ppm Cd atau 1 ppm Pb (Pietilainen, 1975); penambahan 5 ppb Cu pada air danau menurunkan fiksasi nitrogen oleh populasi cyanobacteri. (Horne dan Goldman, 1974); mineralisasi karbon dari glukosa oleh mikroorganisme heterotrop air tawar berkurang karena adanya 0,1 ppm Cd, Cr(III), Hg, Pb, atau Zn (Albright et al., 1972).

#### 2.7.1.d. Pengaruh pada dinamika populasi

Penambahan Cu untuk mengurangi *Ceratium hirundinella* akan menyebabkan pertumbuhan alga hijau *Nannochloris* sp. dan *Dunococcus* sp. (McKnight, 1981); penurunan beragamnya spesies bakteri di air tawar dan air payau dikarenakan adanya 2 ppm Cu atau 0,04 ppm Hg atau kombinasi dari kedua jenis logam tersebut (Singleton dan Guthrie, 1977).

2.7.1.e. Pengaruh pada rantai makanan dan jaring-jaring makanan

Karena mikroorganisme berperan sebagai dasar dari semua rantai makanan dan jaring-jaring makanan, maka akumulasi logam berat terhadap mikroorganisme akan mempengaruhi keseluruhan ekosistem (Trollope dan Evans, 1976; Canterford et al., 1978). Kelangsungan hidup udang air *Gammarus pulex* akan berkurang jika memakan fungi air, *Pythium* sp. yang terkontaminasi oleh Cd (Duddridge dan Wainwright, 1980); kerang laut, *Crassostrea virginica* akan mengalami mortalitas tinggi dan tingkat pertumbuhan yang buruk jika memakan ganggang *Isochrysis galbana* yang terkontaminasi oleh Cu atau Cd (Wikfors dan Ukeles, 1982).

2.7.1.f. Spesies logam

Faktor lain yang mempengaruhi toksisitas logam berat terhadap mikroorganisme adalah pengaruh faktor abiotik lingkungan pada spesies logam. Istilah spesies logam mengacu pada semua kemungkinan gugus-gugus kimia logam yang mungkin ada pada lingkungan yang berbeda. Misalnya, pada air tawar pH 8 Cd sebagai endapan  $CdCO_3$  sehingga tidak dapat diserap oleh mikroorganisme, sedangkan pada air laut pH 8 Cd dalam keadaan terlarut dan membentuk kompleks dengan Cl sehingga mampu diserap oleh mikroorganisme.

## 2.7.2 FAKTOR LINGKUNGAN ABIOTIK

### 2.7.2.a. pH

Telah banyak penelitian yang menunjukkan bahwa pH mempengaruhi toksisitas logam berat terhadap mikroorganisme. Akan tetapi, beberapa data saling berlawanan dan mekanisme pengaruh ini belum jelas definisinya, karena pH mempengaruhi beberapa faktor sistem sel-logam. Yaitu :

- (a) pH mempengaruhi metabolisme sel.
- (b) pH mempengaruhi spesies beberapa logam. Misalnya, di air laut pada pH 8,5 Pb sebagai  $PbOH^+$ , Zn sebagai  $Zn(OH)_2$  (Mahne dan Kroontje, 1973), Cu sebagai  $Cu(OH)_2$  (Zirino dan Yamamoto, 1972), dan Ni sebagai  $Ni^{2+}$  (Richter dan Theis, 1980); di danau yang bersifat asam logam-logam tersebut berupa logam divalent. Perbedaan spesies logam ini menyebabkan toksisitas yang berbeda.
- (c) pH mempengaruhi tingkat kompleksitas logam terhadap zat-zat organik penyusun media, dan kompleks logam dengan zat organik kurang toksik dibandingkan dengan logam bebas (Uabich dan Stotzky, 1980b).

Toksikitas Cd di dalam media yang bersifat alkali disebabkan terbentuknya  $CdOH^+$ , yang lebih cepat menembus membran sel dibandingkan dengan  $Cd^{2+}$ , atau mereduksi kompetisi antara proton ( $H^+$ ) dan  $Cd^{2+}$  atau  $CdOH^+$  pada

TABEL 2.3 PENGARUH pH PADA TOKSISITAS LEBAN SERAT TERHADAP MIKROORGANISME

Logan	pH	Mikroorganisme	Toksistas	Keterangan
C <sub>3</sub>	7 ke 9	<i>Alcaligenes faecalis</i> <i>Bacillus cereus</i> <i>Trichoderma viride</i> <i>Aspergillus niger</i>	naik	Bebich dan Stozky, 1979b
	8 ke 9	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> <i>Mucorales paraffinicus</i> <i>Rhizopus stolonifer</i>	naik	Bebich dan Stozky, 1979c
	5 - 9	<i>Streptomyces olivaceus</i>	tidak dipengaruhi pH	Bebich dan Stozky, 1979a
	5 - 7,2	<i>Aspergillus niger</i>	naik	Bebich dan Stozky, 1977b
	5 ke 8	<i>Micrococcus luteus</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Clostridium perfringens</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	naik	Korkeala dan Pekkanen, 1979
C <sub>4</sub>		<i>Stenotrophomonas boydii</i> <i>Bacillus subtilis</i>	tidak dipengaruhi pH	Korkeala dan Pekkanen, 1979
	7 ke 8	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	turun	Kari dan Starke, 1977
	8 ke 9	<i>Neostoa calcicola</i>	turun	Singh dan Pandey, 1981
	1,5-7,5	<i>Geotrichum sp.</i> <i>Achyia sp.</i>	naik, tetapi jika pH limitasi hingga 7,5 maka ia tidak tumbuh	Bebich dan Stozky, 1979a tidak dipublikasikan
	4 ke 8	<i>Immobiliopsis dan coccidioides</i> <i>algae, Mortierella rivulosa</i>	naik	Martinez dan Whitten, 1977
C <sub>5</sub>	6,5 - 8	<i>In-loluran cyandactaria</i> <i>Phaeocytus distans</i> <i>Immobiliopsis</i>	naik turun	Shahata dan Whitten, 1981
	4 ke 6	<i>Chlorella vulgaris</i>	turun	Rai et.al., 1981
	dasar	<i>Sclerotium cepicola</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Trichoderma viride</i> <i>Achyia sp.</i> <i>Geotrichum sp.</i>	turun turun turun	Morahan, 1976 Bebich dan Stozky, 1977a Bebich dan Stozky, 1977b tidak dipublikasikan
	dasar	<i>Fusarium lycopersici</i>	naik	Morahan, 1976
	5 ke 8	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	naik (terhadap pertumbuhan) naik (terhadap proses fotosintesis)	Steenen Nielsen dan Vang Nielsen, 1979 Steenen Nielsen et.al., 1980
C <sub>6</sub>	3,5-4,7	<i>Aureobasidium anophageum</i>	naik (sebanding dengan C <sub>4</sub> yang diserap)	Sand dan Griffiths, 1980
	dasar	<i>Cyrtolisma sp.</i>	toleran	Starke, 1973
	2 - 2,5	<i>Penicillium nigricans</i>	toleran, dibandingkan pH 4,5 - 5,5	Singh, 1977
	dasar	<i>Achyia sp.</i> <i>Geotrichum sp.</i>	tidak dipengaruhi pH	Bebich dan Stozky, 1979a tidak dipublikasikan
	dasar	<i>Fusarium lycopersici</i> <i>Chlorella vulgaris</i>	naik	Morahan, 1976 Rai et.al., 1981
total 4 ke 8		<i>Chlorella vulgaris</i>	turun	Rai et.al., 1981

gugus-gugus sel. Jika pH naik, jumlah  $H^+$  yang berkompetisi dengan  $Cd^{2+}$  atau  $CdOH^+$  untuk adsorpsi dipermukaan sel akan berkurang (Babich dan Stozky, 1980b).

Ketidakseragaman responsi biotik terhadap Cd yang disebabkan oleh perubahan pH mungkin berkaitan dengan perbedaan media. Zat organik penyusun media menunjukkan perbedaan afinitas Cd dan logam lainnya (derajat pengikatan Cd terhadap zat organik adalah sebagai berikut: asam casamino > proteose > peptone > tryptone >> yeast ekstrak, peptone tidak berikatan dengan Cd); dan ikatan antara logam dengan zat organik tergantung pada pH (Farrah dan Pickering, 1978).

#### 2.7.2.b. Eh

Eh (potensial oksidasi reduksi) merupakan suatu pengukuran terhadap kemampuan elektron, dimana Eh negatif menunjukkan lingkungan mengalami reduksi dan jika Eh positif lingkungan mengalami oksidasi. Eh merupakan faktor penting untuk menentukan bioavailabilitas logam di dalam lingkungan. Kondisi reduksi, misalnya dalam ekosistem yang anaerob, akan menyebabkan konversi mikrobial dari  $SO_4^{2-}$  menjadi  $S^{2-}$ , dengan sedikit pengendapan dari garam-garam sulfid logam (misalnya:  $NiS$ ,  $HgS$ ,  $CdS$ ). Pembentukan sulfida tidak terlarut mereduksi bioavailabilitas logam, sehingga akan menurunkan toksisitas terhadap

mikroorganisme. Sebagai contoh, toksisitas Hg terhadap fermentasi mikroorganisme rumen (Forsberg, 1978) dan Zn terhadap fotosintesis *Selenastrum capricornutum* (Hendrik, 1978) akan berkurang dengan penambahan  $S^{2-}$  yang cukup untuk mengendapkan logam.

#### 2.7.2.c. Senyawa ion inorganik

Komposisi kation (baik dalam jumlah dan jenisnya) di dalam lingkungan dapat menurunkan toksisitas logam terhadap mikroorganisme. Penurunan toksisitas tersebut terutama sekali penting untuk logam-logam yang berada dalam bentuk kation (misalnya,  $Hg^{2+}$  dibandingkan  $HgCl_3^-$ ), karena kompetisi di atas permukaan sel antara kation-kation umumnya terjadi di alam dan spesies kation dari logam berat menunjukkan tingkat logam yang diserap oleh mikroorganisme.

TABEL 2.4 PENGARUH ION INORGANIK PADA TOKSISITAS LOGAM TERHADAP MIKROORGANISME

Logam Ion/cons.	Mikroorganisme	Toksistasitas	Sumber	
Cd	Fe/naik	Chlorella pyrenoidosa	turun	Hart et.al., 1979
Cu	Mg/naik	Phaeodactylum tricornutum	turun (terhadap pro- ses fotosintesis)	Overcoll, 1976
Zn	Mg/naik	Phaeodactylum tricornutum	turun (terhadap per- tumbuhan)	Brack et.al., 1976
Zn	Mg/naik	Horridium rivulare	turun (terhadap per- tumbuhan)	Ray dan Whittan, 1982
		Anacyclus nigulans		Shahria dan Whittan, 1977
		Vibrio parvulus		Amstrong et.al., 1980
		Escheria coli		Hibson dan Aldous, 1980
		Mercuripus crass		Bastri et.al., 1982
Cd	Mg/naik	Escheria coli	turun (terhadap pertumbuhan)	Hibson dan Aldous, 1980
		Aspergillus niger		Liborey dan Lawdlay, 1973
Cd	Ca/naik	Aspergillus niger	turun	Liborey dan Lawdlay, 1977



lanjutan

In	Defeak	<i>Horridius rivulare</i>	turun	Say dan Whittton, 1977
		<i>Anacyrtus nidulans</i>	turun	Shahata dan Whittton, 1982
In & Mg	Ca/mak	<i>Chlorella vulgaris</i>	turun	Rai et.al., 1981
Ca	In/mak	<i>Phaeobactylon tricorputum</i>	turun	Brack et.al., 1976
Ca	In/mak	<i>Chlorella</i>	turun	Wattis et.al., 1973
		<i>Aspergillus niger</i>	turun	Sipos dan Biro, 1978
		<i>Tetrahymena pyriformis</i>	turun	Lefevre dan Lavoilley, 1977
			turun	Dunlop dan Chapman, 1981
Pb	karbonat	<i>Aspergillus giganteus</i>	turun (karena hambatan endapan $PbCO_3$ )	Babich dan Stocky, 1979a
		<i>Penicillium solani</i>		
		<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>		Schulze dan Brand, 1978
In	karbonat	<i>Chlorella vulgaris</i>	turun	Sana dan Kuser, 1974
		<i>Horridius rivulare</i>		Rai et.al., 1981
		<i>Piscinella boryanum</i>		Say dan Whittton, 1977
		<i>Anacyrtus nidulans</i>		Rai dan Kuser, 1974
				Shahata dan Whittton, 1982

#### 2.7.2.d. Air sadah

Air sadah disebabkan oleh ion-ion logam yang terlarut di dalam air, biasanya disebabkan oleh Ca dan Mg. Air sadah umumnya bersifat basa dan banyak mengandung bikarbonat ( $HCO_3^-$ ) dan karbonat ( $CO_3^{2-}$ ) daripada  $CO_2$  bebas yang terdapat pada air yang bersifat asam. Komponen-komponen utama air sadah dapat mereduksi toksisitas logam berat terhadap mikroorganisme.

Toksisitas Pb (Carter dan Cameron, 1973), Cd dan Zn (Chapman dan Dunlop, 1981) terhadap *Tetrahymena pyriformis*; Cd terhadap fungi, *Beauveria* sp., *Aspergillus niger*, *Aspergillus giganteus*, *Penicillium vermiculatum* dan *Trichoderma viride*; Pb terhadap *Rhizopus stolonifer* dan

*Oospora* sp. (Bahich dan Stozky, 1981b); Zn dan Co terhadap *Chlorella pyrenoidosa* (Wong, 1980) akan menurun di dalam air sadah. Akan tetapi toksisitas Hg di dalam air sadah menjadi dua kali lebih besar terhadap *Tetrahymena pyriformis* dibandingkan dengan toksisitas Hg pada air lunak (Carter dan Cameron, 1973).

#### 2.7.2.g. Mineral-mineral tanah liat

Permukaan tanah liat mempunyai muatan negatif sehingga mampu mengadsorpsi kation-kation seperti  $H^+$ ,  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $NH_4^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ . Ikatan ini tidak permanen dan kation-kation tersebut akan digantikan oleh kation lain. Jumlah kation yang dapat digantikan oleh tanah liat dinyatakan dalam meq. tiap 100 g tanah liat yang dikeringkan dalam oven dan disebut Cation Exchange Capacity (CEC). Penyerapan logam berat oleh mineral tanah liat dipengaruhi oleh berbagai faktor abiotik seperti pH, misalnya: jumlah Cu, Pb dan Cd yang diadsorpsi oleh illit dan kaolinit akan meningkat jika pH dinaikkan dari 3,5 menjadi 6,5 tetapi tidak mempengaruhi adsorpsi logam oleh montomorillonit (Farah dan Pickering, 1977).

Montomorillonit dan kaolinit mencegah toksisitas Cd terhadap *Bacillus megaterium*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Nocardia corallina*, *Trichoderma viride*, *Xcopulariopsis brevicaulis*, *Aspergillus niger*, *Phycomyces blakesleeana*,

*Botrytis cinerea*, *Pholiota marginata*, *Thielaviopsis paradoxa*, *Chaetomium* sp. dan *Schizophyllum* sp. di dalam medium sintesis. Kemampuan tanah liat melindungi toksisitas logam berat terhadap mikroorganisme akan meningkat jika konsentrasi tanah liat meningkat.

Montmorillonit, attapulgit, dan kaolinit mencegah toksisitas Pb terhadap *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani*, *Cunninghamella echinulata*, *Aspergillus niger*, dan *Trichoderma viride*. Kemampuan suatu jenis tanah liat untuk mencegah toksisitas logam berat terhadap mikroorganisme bergantung pada nilai CEC tanah liat tersebut (montmorillonit > attapulgit > kaolinit).

#### 2.7.2.f. Oksida logam hidroksida

Dalam tingkatan yang lebih rendah dari tanah liat, oksida-oksida logam seperti  $\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ , dan  $\text{MnO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$  dapat menggantikan logam berat (Hildebrand dan Blum, 1974; Swallow et al., 1980) sehingga dapat menurunkan toksisitas logam berat terhadap mikroorganisme. Untuk mencegah toksisitas Cu terhadap fotosintesis *Chlorella pyrenoidosa* ditambahkan  $\text{FeCl}_3$  pada medium basa, karena Cu akan diadsorpsi oleh muatan negatif  $\text{Fe}(\text{OH})_3$  yang terjadi pada kondisi basa (Steeman Nielsen dan Kamp-Nielsen, 1970; Steeman Nielsen dan Wiium-Andersen, 1970).

### 2.7.2.c. Unsur-unsur organik

Unsur-unsur organik, baik yang terlarut maupun partikulat, yang berada di dalam ekosistem mempunyai pengaruh yang besar pada mobilitas, dan toksisitas logam berat terhadap mikroorganisme. Interaksi antara unsur organik dan logam berat bergantung pada faktor abiotik lingkungan. Faktor-faktor abiotik yang dapat mengurangi valensi kation dari logam juga akan mengurangi kemampuan logam membentuk kompleks dengan unsur organik. Misalnya, EDTA, oksalat, sitrat, cysteine, unsur *chelating* alami akan mengurangi adsorpsi Cu, Pb, Zn dan Cd oleh selulosa (Farah dan Pickering, 1978).

Total 2.5 PENGARUH UNSUR-UNSUR ORGANIK TERHADAP TOKSISITAS LOGAM BERAT

logam organik	mikroorganisme	toksisitas	sumber
Cu	EDTA	Chlorocella Scenedesmus Ditylum brightwellii Klebsiella pneumoniae Pseudomonas fluorescens Serratia marcescens	turun Stokes et.al., 1973 Canterford, 1980 Davey et.al., 1973 Schulz-Baldes dan Lewin, 1976 Anderson dan Horrel, 1978
Zn	EDTA	Microcystis aeruginosa Ditylum brightwellii Klebsiella pneumoniae	turun Allen et.al., 1980 Canterford, 1980 Pickett dan Dean, 1976
Pb	EDTA	Ditylum brightwellii	turun Canterford, 1980
Cd	EDTA	Ditylum brightwellii Klebsiella pneumoniae	turun Canterford, 1980 Pickett dan Dean, 1976
Zn	NTE	Microcystis aeruginosa	turun Allen et.al., 1980
Pb	NTE	Chlamydomonas reinhardtii	turun Schulze dan Branc, 1978

Zat organik terlarut yang lebih kompleks juga mengikat dan mengurangi toksisitas logam, zat-zat organik

tersebut mempunyai perbedaan daya ikat terhadap logam, misalnya: urutan ikatan zat organik terhadap Hg adalah asam casamino >> proteose peptone > ekstrak yeast >> tryptone > peptone; untuk Pb adalah asam casamino >> ekstrak yeast > tryptone > peptone > proteose peptone; sedangkan untuk Cu adalah asam casamino >> ekstrak yeast > tryptone > proteose peptone > peptone (Ramamoorthy dan Kushner, 1975).

### 2.7.3 FAKTOR BIOTIK

Beberapa faktor biotik juga mempengaruhi tingkat sensitivitas mikroorganisme terhadap logam. Ukuran sel mungkin merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi sensitivitas tersebut; misalnya, proses fotosintesis *Chlamydomonas reinhardtii*, *Navicula pelliculosa*, dan *Anabaena* sp. akan berkurang sebesar 50 % jika terpapar oleh 15 - 18 ppm Pb; sedangkan fotosintesis *Cosmarium botrytis*, yang mempunyai permukaan lebih luas, akan berkurang 50 % karena 5 ppm Pb. Strain *Klebsiella pneumoniae* yang berkapsul lebih tahan terhadap Cu dan Cd dibandingkan dengan strain yang tidak berkapsul, karena polisakarida pada kapsul mengikat logam dan mencegah akumulasi intraseluler (Bitton dan Freihofer, 1978). Polipeptida ekstraseluler chelator yang dihasilkan oleh *Anabaena cylindrica* (Fogg dan Westlake, 1955) dan oleh

ganggang laut, *Cricosphaera elongata* (Gnassia-Earelli et al., 1978) mencegah toksisitas Cu terhadap sel.

Bahan-bahan nutrisi juga mempengaruhi respon mikroorganisme terhadap logam. Misalnya, *Klebsiella pneumoniae* yang hidup pada media yang mengandung  $Mg^{2+}$ ,  $NH_4^+$ ,  $PO_4^{3-}$ , dan sedikit glukosa akan sangat sensitif terhadap Cd. Begitu pula *Klebsiella pneumoniae* yang hidup pada media yang mengandung  $Mg^{2+}$ ,  $K^+$  dan sedikit glukosa akan sangat sensitif terhadap Zn. dibandingkan dengan *Klebsiella pneumoniae* yang hidup pada media yang lebih banyak mengandung unsur-unsur tersebut (Pickett dan Dean, 1976). Ni yang diserap oleh *Phaeodactylum tricornutum* (Skaar et.al., 1974) dan *Saccharomyces cerevisiae* (Fuhrmann dan Rothsein, 1968) akan turun karena adanya  $PO_4^{3-}$ .

Strain mikroorganisme yang resistan terhadap logam berat dapat diisolasikan dengan mudah dari lingkungan yang tercemari oleh logam berat. Misalnya, spesies *Chlorella* dan *Scenedesmus* yang hidup di danau yang tercemari oleh Ni ternyata lebih tahan (toleransi) terhadap Ni dibandingkan dengan strain spesies tersebut yang dikembangkan di laboratorium (Stokes et.al., 1973). Begitu pula, *Klebsiella pneumoniae* (Ainsworth et.al., 1980) dan ragi, *Saccharomyces ellipsoideus* (Nakamura, 1962) dapat diperlakukan supaya tahan terhadap Ni.

## 2.8 KARAKTERISTIK LOGAM

### 2.8.1 CADMIUM

Cadmium mempunyai sifat toksik terhadap mikroorganisme. Tanah yang tercemari Cadmium akan mereduksi jumlah bakteri dan jamur (termasuk aktinomiset).

Cadmium mempunyai afinitas yang besar untuk bereaksi dengan ion atau gugus organik. Ikatan antara cadmium dengan senyawa organik di dalam sel dapat mempengaruhi metabolisme dan pertumbuhan sel.

### 2.8.2 MERKURI<sup>10</sup>

Merkuri mempunyai bentuk fisik dan kimiawi yang sangat bervariasi. Bentuk kimiawi dan fisik yang berbeda dari merkuri mempunyai sifat toksisitas yang berbeda pula dan aplikasi yang berbeda pula dalam industri dan pertanian.

Merkuri, bersama dengan kadmium dan seng, termasuk dalam golongan IIB dari tabel periodik unsur-unsur. Merkuri dapat berada dalam bentuk merkuri (I) dan merkuri (II) di mana atom merkuri kehilangan satu dan dua elektronnya. Senyawa-senyawa kimia yang tersusun dari merkuri (II) banyak terdapat dibandingkan dengan senyawa-senyawa merkuri (I).

Merkuri (II) yang membentuk senyawa garam dengan senyawa organik merupakan golongan penting senyawa

organik-logam. Senyawa ini ditandai dengan berikatannya merkuri dengan salah satu atau dua atom karbon untuk membentuk senyawa  $RHgX$  dan  $RHgR'$  di mana  $R$  dan  $R'$  merupakan gugus organik. Jenis  $RHgX$  lebih banyak jumlahnya, di mana  $X$  adalah anion. Ikatan organik-merkuri merupakan ikatan yang stabil. Stabilitas ikatan tersebut disebabkan sangat rendahnya afinitas merkuri terhadap oksigen. Gugus organik,  $R$ , sangat bervariasi misalnya gugus alkil, gugus penil, gugus methoksiethyl.

Merkuri dalam bentuk inorganik bersifat toksik terhadap mikroorganisme, misalnya merkuri klorida. Merkuri akan lebih toksik jika berada dalam bentuk organik, misalnya metil merkuri.

#### 2.8.3 TIMBAL

Timbal banyak digunakan sebagai herbisida untuk mengurangi populasi bakteri, aktinomiset dan jamur. Sifat toksisitas timbal disebabkan karena timbal mampu berikatan dengan senyawa organik. Ikatan ini mengganggu aktivitas metabolisme sel.

#### 2.8.4 SENG

Seperti cadmium dan merkuri, seng terletak pada golongan IIB tabel periodik unsur-unsur. Seng dan tembaga yang terpapar di tanah tempat penambangan kuningan



dapat menurunkan populasi jamur sampai 75%.<sup>11</sup> Ikatan antara seng dengan senyawa organik dapat mempengaruhi metabolisme di dalam sel.

#### 2.8.5 TEMBAGA

Tembaga di dalam tabel periodik unsur-unsur terletak di dalam golongan Ib bersama-sama dengan emas dan perak. Tembaga juga bersifat toksik terhadap mikroorganisme. Sifat toksik ini berpengaruh terhadap metabolisme di dalam sel, karena ikatan tembaga dengan senyawa organik di dalam sel mempengaruhi metabolisme di dalam sel.

#### 2.9 MEKANISME PERLINDUNGAN MIKROORGANISME TERHADAP LOGAM BERAT<sup>10, 11</sup>

Wood (1984) menyebutkan enam mekanisme perlindungan yang terdapat pada mikroorganisme (dan beberapa organisme tingkat tinggi tertentu) yang dapat meningkatkan daya tahan mereka terhadap ion logam secara umum, dan khususnya terhadap merkuri. Mekanisme tersebut secara biokimia menyebabkan ion merkuri kurang efektif dalam mengganggu proses biokimia di dalam sel. Mekanisme tersebut adalah:

- a. Pompa effluks yang memindahkan ion dari sel, sebuah proses yang membutuhkan energi.
- b. Reduksi enzimatis untuk mengurangi toksisitas logam.

Mikroorganisme dapat mengubah logam berat dengan oksidasi, reduksi, metilasi dan demetilasi. Hal ini tidak hanya berkaitan dengan siklus biogeokimia tetapi juga mekanisme resistansi. Mekanisme perubahan logam di dalam sel untuk mengurangi toksisitas logam di dalam sel paling mungkin terjadi di dalam vakuola mikroorganisme eukariot, meskipun penjelasan yang mendetail di dalam bidang ini amat terbatas.<sup>11</sup>

c. Berikatan dengan polimer intraseluler.

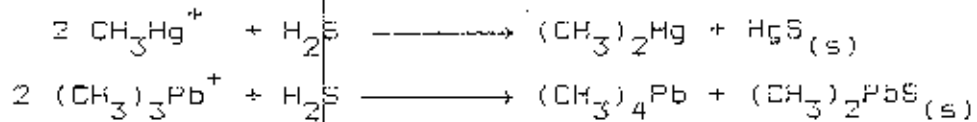
d. Pengikatan logam di permukaan sel.

Banyak bakteri menghasilkan polisakarida di luar sel yang bersifat sebagai anion dan berfungsi sebagai biosorban yang efisien untuk kation-kation logam. Polisakarida ini merupakan penghalang yang efisien dan penting untuk mencegah masuknya logam tertentu ke dalam sel.

e. Pengendapan senyawa inorganik kompleks tak terlarut, biasanya endapan sulfida dan oksida di permukaan sel.

Mikroorganisme tertentu, terutama bakteri pereduksi sulfat, *Desulphovibrio*, dapat mengikat logam dengan gugus sulfida sehingga membentuk endapan yang tidak terlarut. Produksi sulfida oleh mikroorganisme ini juga penting di dalam siklus biologi dari merkuri. Hidrogen sulfida sangat efektif pada proses volatilasi dan pengendapan merkuri, seperti pada reaksi berikut

ini:

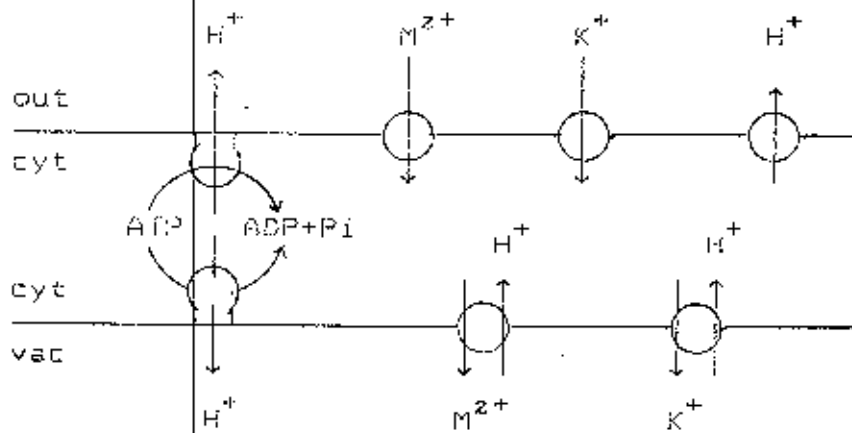


- f. Biometilasi dengan transpor melalui membran sel dengan cara difusi sederhana.

Transportasi intraselular, berjalan lambat dibandingkan dengan proses ikatan logam, dipengaruhi oleh inhibitor metabolik, suhu rendah, dan tidak adanya sumber energi (seperti glukosa pada organisme heterotrof, dan cahaya pada organisme fototrof). Pada beberapa alga, bakteri dan ragi, jumlah akumulasi logam karena transportasi ini melebihi jumlah akumulasi yang disebabkan karena biosorpsi. Laju transportasi ini juga mempengaruhi tingkat metabolisme sel. Secara keseluruhan transportasi logam ke dalam sistem biotik dipengaruhi oleh gradien ionik melalui membran sel, misalnya  $\text{H}^+$  dan atau  $\text{K}^+$ , dan potensial membran.

Penelitian yang telah dilakukan mengenai hubungan antara transportasi logam berat ke dalam mikroorganisme dan toksisitas logam menunjukkan bahwa strain mikroorganisme yang resisten menyerap lebih sedikit dibandingkan dengan strain yang sensitif.

Adapun mekanisme transportasi logam berat ke dalam sel *S. cerevisiae* dijelaskan pada gambar 2.17 berikut.



Gambar 2.17 Skematik transportasi logam ke dalam sel *S. cerevisiae*

Penjelasan dari skematik di atas (Gambar 2.17) adalah sebagai berikut:

- Di dalam sitoplasma terjadi proses sintesa ATP menjadi ADP dan energi serta melepaskan ion H<sup>+</sup>. Ion ini ada yang keluar dari sel dan ada yang dimanfaatkan untuk proses di dalam vakuola.
- Ion-ion logam yang mempunyai afinitas tinggi akan masuk ke dalam sitoplasma. Masuknya ion logam dipengaruhi oleh kesetimbangan ion H<sup>+</sup> yang ada di dalam sel.
- Ion-ion logam yang telah masuk di dalam sitoplasma akan menuju ke dalam vakuola. Afinitas ion logam yang lebih tinggi dari afinitas ion H<sup>+</sup> akan menyebabkan perubahan kesetimbangan di dalam vakuola sehingga akan mendorong ion H<sup>+</sup> keluar dari vakuola.

## BAB III

### MATERIAL DAN METODOLOGI

#### 3.1 PENGAMATAN TIMBULNYA GAS KARBON DIOKSIDA

##### 3.1.1 PERALATAN

Peralatan yang dibutuhkan untuk mengamati terjadinya gas  $\text{CO}_2$  yang timbul dari sintesa glukosa oleh *S. cerevisiae* adalah: gelas ukur 100. dan 50 ml, erlenmeyer 100 ml, selang plastik, sumbat karet, ember plastik, spin bar, beker glass 1000 ml, stop watch, termometer, stirromatic, dan pH meter.

Semua peralatan dari kaca yang dipergunakan untuk penelitian sebelum dipakai dicuci dengan alkohol 70% dan aquades redestilasi.

##### 3.1.2 KOMPOSISI LARUTAN

Media yang dipergunakan untuk mengamati timbulnya gas  $\text{CO}_2$  dari sintesa glukosa oleh *S. cerevisiae* adalah: glukosa 2 gram, aquades redestilasi 50 ml, dan *Saccharomyces cerevisiae* 0,5 gram.

Untuk larutan yang mengandung logam berat ditambahkan 1 ml logam berat dengan konsentrasi yang berbeda-beda pada komposisi larutan seperti di atas.

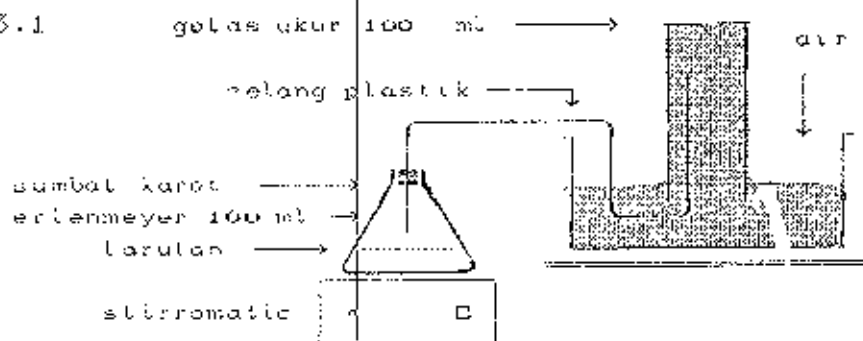
Sedangkan untuk pengamatan gas  $\text{CO}_2$  dengan media limbah kertas, maka glukosa (2 gram) dilarutkan dalam limbah sebesar 50 ml dengan nilai BOD limbah yang

berbeda-beda.

### 3.1.3 METODOLOGI

Glukosa dilarutkan dalam aquades redestilasi di dalam erlenmeyer 100 ml. Setelah *S. cerevisiae* dan spin bar dimasukkan ke dalam erlenmeyer maka tabung ditutup dengan sumbat karet. Selama proses sintesa glukosa oleh *S. cerevisiae* akan dihasilkan gas  $\text{CO}_2$  dan alkohol. Gas yang dihasilkan selama proses dilewatkan melalui selang plastik dan ditampung di dalam gelas ukur 100 ml yang penuh berisi air (Gambar 3.1). Dalam interval waktu tertentu gas  $\text{CO}_2$  yang dihasilkan dicatat. Besarnya gas  $\text{CO}_2$  yang dihasilkan sama dengan volume air yang turun di dalam gelas ukur 100 ml (seperti pada Gambar 3.2).

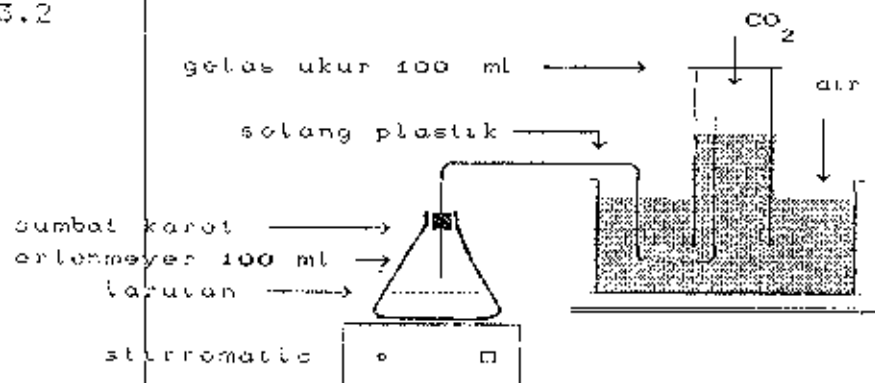
Gambar 3.1



Untuk larutan yang mengandung logam berat, maka dalam larutan ditambahkan 1 ml larutan dengan konsentrasi yang berbeda-beda. Volume gas  $\text{CO}_2$  yang

dihasilkan oleh larutan yang mengandung logam berat dicatat dalam interval waktu yang sama dengan larutan blanko. Prosedur yang sama juga dilakukan terhadap larutan limbah kertas.

Gambar 3.2



## 3.2 PENGAMATAN PERTUMBUHAN *S. cerevisiae*

### 3.2.1 PERALATAN

Peralatan yang dibutuhkan untuk mengamati pertumbuhan *S. cerevisiae* adalah : petri dish, autoclave, inkubator, bunsen, pipet. Petri dish dan pipet sebelum dipakai telah disterilisasi lebih dahulu dengan menggunakan autoclave.

### 3.2.2 MEDIA

Komposisi media yang dipergunakan untuk pertumbuhan *S. cerevisiae* adalah : air 1000 ml, glukosa 40 gr, agar-agar 20 gr. Bahan-bahan tersebut dilarutkan dalam air dan disterilkan dengan autoclave.

### 3.2.3 METODOLOGI

Petri dish dan pipet yang telah disterilkan disimpan dalam inkubator. Kemudian larutan media yang telah disterilkan dituang dalam petri dish. Setelah suhu media mendekati  $40^{\circ}\text{C}$  di atas media dituangkan 1 ml larutan *S. cerevisiae* yang telah diencerkan beberapa kali (metode pengenceran seperti pada gambar 3.3 berikut ini). Kemudian petri dish ditutup dan disimpan dalam inkubator dengan posisi media di atas supaya air pada tutup petri dish tidak membasahi permukaan media. Pengamatan mulai dilakukan satu jam kemudian. Untuk mengetahui pengaruh logam berat atau limbah kertas terhadap pertumbuhan *S. cerevisiae*, di atas media diteteskan 1 ml larutan *S. cerevisiae* yang mengandung logam berat atau limbah pabrik kertas.

### 3.3 YEAST

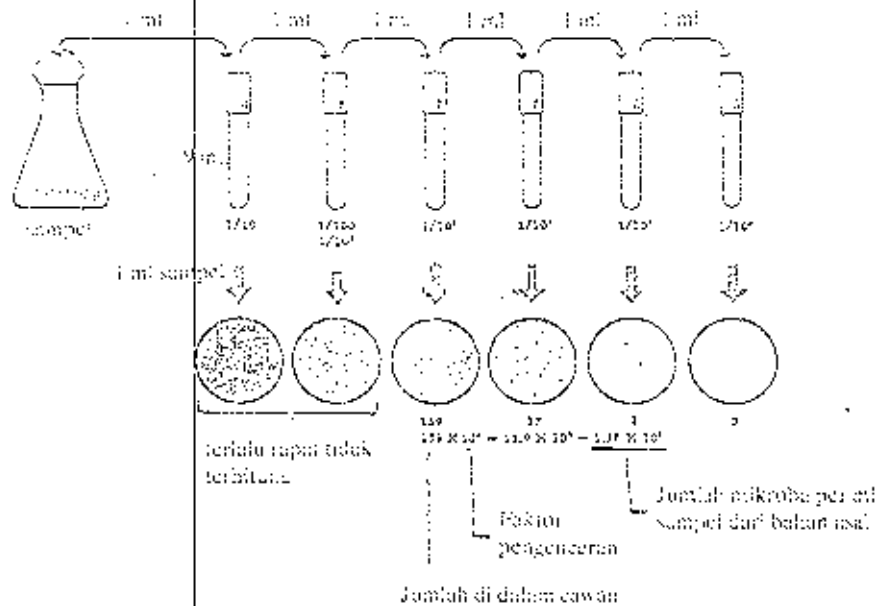
Untuk pengamatan timbulnya gas  $\text{CO}_2$  dipergunakan *S. cerevisiae* kering. Sedangkan untuk mengamati pertumbuhan *S. cerevisiae*, 0,5 gram *S. cerevisiae* dilarutkan dalam larutan gula 4-5%. Kemudian diambil 1 ml untuk diencerkan dan diinokulasikan pada media padat.

### 3.4 PENGATURAN pH

Pengaturan pH dimaksudkan untuk mendapatkan kondisi



optimum bagi pertumbuhan *S. cerevisiae* yaitu antara 4 - 6. Dengan mengatur pH media antara 4 - 6 maka pengaruh pH terhadap logam berat diabaikan.



Gambar 3.3 Cara pengenceran

### 3.5 LOGAM BERAT

Logam berat yang diuji daya toksiknya terhadap *S. cerevisiae* adalah :  $\text{Cu}^{2+}$  dari  $\text{CuCl}_2$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  dari  $\text{CdSO}_4$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  dari  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{Hg}^{2+}$  dari  $\text{HgCl}_2$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  dari  $\text{ZnSO}_4$ .

### 3.6 LIMBAH PENGOLAHAN KERTAS

Limbah pengolahan kertas yang diuji daya toksiknya terhadap *S. cerevisiae* adalah:

- limbah 'black liquor' yang bersifat basa dengan nilai BOD 4000 ppm (pH 8) dan 2000 ppm (pH 7,7).

- limbah 'white liquor' bersifat asam dengan nilai BOD 1000 ppm (pH 5,1), 500 ppm (pH 5,6), 250 ppm (pH 5,8), 100 ppm (pH 6,1), dan 50 ppm (pH 6,4).

### 3.7 METODE UJI DENGAN STATISTIK<sup>15</sup>

#### 3.7.1 PRESISI DAN AKURASI

Suatu penelitian yang dilakukan dengan sejumlah sampel harus presisi dan akurat. *Presisi* berkaitan dengan pengulangan suatu metode terhadap sampel yang homogen dalam kondisi tertentu, meskipun nilai pengulangan tersebut tidak sama dan terdapat error ( $\sigma$ ) di dalam range data tersebut. Presisi dinyatakan dalam *standar deviasi* ( $\sigma$ ). Sedangkan data tersebut harus *akurat*, yaitu keterkaitan antara nilai komparasi yang diukur dengan metode uji dan nilai yang ada (aktual). *Kesalahan relatif* menyatakan perbedaan antara nilai yang diukur dan nilai nyata.

#### 3.7.2 PENDEKATAN DENGAN STATISTIK

Nilai rata-rata ( $\bar{x}$ )

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i \quad (3-1)$$

di mana,  $x$  = nilai yang ada

$n$  = jumlah sampel

Standar deviasi ( $\sigma$ )

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1}} \quad (3-2)$$

dimana,  $x$  = nilai yang ada $\bar{x}$  = nilai rata-rata $n$  = jumlah sampelNilai rata-rata ( $\bar{x}$ ) terletak antara  $\bar{x} \pm 1,96 \text{ t}/\sqrt{n}$ .

Rango untuk mean ini disebut sebagai tingkat kepercayaan (confidence interval) 95%.

$n$	$t$
2	12,71
3	4,30
4	3,18
5	2,78
10	2,26
$\infty$	1,96

### 3.7.3 REGRESI LINEAR

Regresi linear berarti, bahwa rata-rata  $Y|x$  berkaitan linear dengan  $x$  dalam bentuk persamaan linear biasa

$$\mu_{Y|x} = \alpha + \beta x$$

$\alpha$  dan  $\beta$  merupakan dua parameter yang akan ditaksir dari data sampel. Bila taksiran untuk kedua parameter itu masing-masing dinyatakan dengan  $a$  dan  $b$  maka taksiran untuk respon  $\hat{y}$  dapat

diperoleh dari bentuk garis regresi berdasarkan sampel,

$$\hat{y} = a + bx$$

maka, persamaan untuk parameter  $a$  dan  $b$  adalah:

$$b = \frac{\sum_{i=1}^n x_i y_i - \left( \sum_{i=1}^n x_i \right) \left( \sum_{i=1}^n y_i \right)}{n \sum_{i=1}^n x_i^2 - \left( \sum_{i=1}^n x_i \right)^2} \quad (3-3)$$

$$a = \bar{y} - b\bar{x} \quad (3-4)$$

Varian dan standar deviasi dirumuskan sebagai berikut:

$$J_{xx} = \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 = \sum_{i=1}^n x_i^2 - \left( \sum_{i=1}^n x_i \right)^2 / n \quad (3-5)$$

$$J_{yy} = \sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2 = \sum_{i=1}^n y_i^2 - \left( \sum_{i=1}^n y_i \right)^2 / n \quad (3-6)$$

$$\begin{aligned} J_{xy} &= \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y}) \\ &= \sum_{i=1}^n x_i y_i - \left( \sum_{i=1}^n x_i \cdot \sum_{i=1}^n y_i \right) / n \end{aligned} \quad (3-7)$$

$$\begin{aligned} s^2 &= \frac{JKG}{n-2} \\ &= \frac{J_{yy} - b \cdot J_{xy}}{n-2} \end{aligned} \quad (3-8)$$

di mana,  $x_i$  = nilai masing-masing variabel x  
 $y_i$  = nilai masing-masing variabel y  
 $\bar{x}$  = nilai rata-rata x  
 $\bar{y}$  = nilai rata-rata y  
 $n$  = jumlah sampel  
 $s^2$  = varian  
 $t_{\alpha}$  = uji t dengan kepercayaan  $(1-\alpha)$   
 $b$  = penaksir  $\beta$

#### 3.7.4 ANALISA REGRESI

Analisis variansi dipergunakan untuk menilai baik tidaknya taksiran garis regresi.

$$J_{yy} = b J_{xy} + JKG \quad \text{atau}$$

$$JKT = JKR + JKG$$

Untuk menguji hipotesa,

$$H_0 : \beta = 0$$

$$H_1 : \beta \neq 0$$

Tabel ANOVA

jumlah variasi	sumber kuadrat	derajat kebebasan	rataan kuadrat	f hitung
Regresi	JKR	1	JKR	JKR/s <sup>2</sup>
Residu	JKG	n-2	s <sup>2</sup>	
Total	JKT	n-1		

$H_0$  ditolak jika  $f_{hitung} > f_{\alpha(1,n-2)}$  maka disimpulkan bahwa model regresi benar.

$H_0$  diterima jika  $f_{hitung} < f_{\alpha(1,n-2)}$  maka disimpulkan bahwa model tidak relevan.

### 3.7.2 KOEFISIEN KORELASI

Koefisien korelasi menunjukkan keeratan hubungan antara variabel  $x$  (bebas) dengan variabel  $y$  (tidak bebas). Nilai koefisien korelasi ( $r$ ) antara  $-1 < r < 1$ . Jika nilai  $r$  sama dengan  $-1$  atau  $1$  maka variabel sangat terkait dengan variabel  $x$ . Jika nilai  $r$  sama dengan  $0$  maka variabel  $y$  tidak terikat dengan variabel  $x$ . Nilai  $r$  dirumuskan:

$$r = \frac{\sum xy}{\sqrt{\sum x^2 \sum y^2}} \quad (3-9)$$

### 3.8 ANALYTICAL QUALITY CONTROL

AQC dilakukan untuk mengetahui apakah pengulangan suatu metode yang sama dalam penelitian tersebut memberikan hasil yang akurat dan presisi. Suatu pengulangan metode dapat dikatakan akurat jika hasil pengulangan ( $30 \times$ ) tersebut terletak antara  $\bar{x} \pm 3 \text{ sd}$ .

### 3.9 MENENTUKAN LC50

LC50 ialah konsentrasi logam berat yang menyebabkan laju pertumbuhan *S. cerevisiae* menurun menjadi 50% dari keadaan semula (normal) atau yang menyebabkan produksi gas  $\text{CO}_2$  yang dihasilkan berkurang sebesar 50%. LC50 dapat ditentukan dari grafik konsentrasi versus persentase penurunan gas  $\text{CO}_2$  yang dihasilkan.

## BAB IV KOMPILASI DAN ANALISA DATA

### 4.1 KOMPILASI DATA HASIL PENGAMATAN GAS CO<sub>2</sub>

Adapun hasil pengamatan timbulnya gas CO<sub>2</sub> dari proses fermentasi glukosa oleh *S. cerevisiae* karena pengaruh logam berat:

- CdSO<sub>4</sub> sebesar 0, 1/2, 1, 1 1/2, 2 1/2, 3 1/2 dan 5 ppm.
- HgCl<sub>2</sub> sebesar 0, 1 1/2, 2, 4, 5, 7 1/2, 10, dan 12 1/2 ppm.
- Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> sebesar 0, 1/2, 1, 2 1/2, 3, 5, 6, dan 7 1/2 ppm.
- ZnSO<sub>4</sub> sebesar 0, 1/2, 1, 1 1/2, 2, 4, 6, 7 1/2 ppm.
- CuCl<sub>2</sub> sebesar 0, 1/2, 1, 2 1/2, 4, 6, 7 1/2, dan 9 ppm.
- limbah kertas dengan nilai BDD sebesar 0, 50, 100, 250, 500, 1000, 2000, dan 4000 ppm.

adalah seperti pada tabel-tabel berikut ini.

Tabel 4.1 Pengaruh CdSO<sub>4</sub> terhadap gas CO<sub>2</sub>

WAKTU	CO <sub>2</sub> (ml)							
	0	0.5	1	1.5	2	2.5	3.5	5
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
15	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
30	11.0	7.5	6.5	5.5	4.0	2.5	0.5	0.0
45	21.5	17.5	13.0	9.0	5.5	5.0	2.0	0.5
60	40.0	32.0	27.5	18.0	9.5	7.5	2.5	0.5
75	57.5	50.0	42.0	25.0	19.0	10.0	5.0	0.5
90	78.0	67.5	58.0	39.0	29.5	15.0	5.0	1.0
105	99.0	84.0	72.5	53.5	39.0	21.0	5.5	1.0
120	121.0	101.0	88.0	65.0	48.0	29.5	6.0	1.0
135	144.0	117.5	101.0	79.5	55.0	35.5	6.0	1.5
150	177.5	132.5	117.5	92.0	60.0	41.0	6.5	1.5
165	212.5	151.0	127.0	112.0	68.0	45.0	6.5	1.5
180	252.0	165.0	137.5	118.0	74.0	50.0	6.5	1.5

Tabel 4.2 Pengaruh  $HgCl_2$  terhadap gas  $CO_2$

waktu	$CO_2$ (ml)							
	0	1.5	2	4	5	7.5	10	12.5
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
15	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
30	10.5	10.0	9.5	4.5	4.0	2.5	0.5	0.0
45	24.0	21.0	18.0	10.0	8.0	5.0	2.0	0.5
60	41.0	37.5	30.0	17.5	12.5	10.0	4.0	0.5
75	59.5	53.0	42.5	29.0	20.5	17.5	5.5	1.5
90	79.5	67.5	57.5	43.5	31.0	25.0	7.5	1.5
105	100.5	85.0	75.0	55.0	37.0	27.5	9.0	3.0
120	123.0	101.0	92.5	62.5	43.0	32.5	10.5	3.0
135	148.0	115.0	110.0	69.5	48.5	34.0	11.0	4.0
150	175.0	130.0	124.0	74.5	52.5	36.0	11.5	4.0
165	210.0	145.0	134.0	77.5	55.5	37.0	11.5	4.5
180	252.0	167.5	142.0	79.0	58.0	37.5	12.5	4.5

Tabel 4.3 Pengaruh  $Pb(NO_3)_2$  terhadap gas  $CO_2$

waktu	$CO_2$ (ml)							
	0	0.5	1	2.5	3	5	6	7.5
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
15	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
30	12.0	11.5	10.0	8.5	7.5	7.0	6.5	4.0
45	25.0	23.0	22.0	17.5	15.5	15.0	13.0	8.0
60	42.5	38.0	35.0	27.5	25.0	24.5	22.5	12.0
75	60.0	55.5	50.0	37.0	36.0	35.0	31.5	19.0
90	78.0	74.0	63.0	51.5	48.0	45.5	41.0	26.0
105	96.5	94.0	77.0	66.5	60.0	57.5	52.0	34.0
120	120.0	115.0	91.0	81.5	73.0	69.5	63.0	44.0
135	145.0	138.0	105.0	96.5	87.0	82.5	70.5	55.0
150	176.0	157.0	118.0	110.5	100.0	94.0	76.0	61.0
165	210.0	177.0	131.0	123.5	112.5	106.0	80.0	64.0
180	250.5	198.0	146.0	135.5	121.0	117.5	84.0	68.0

Tabel 4.4 Pengaruh  $ZnSO_4$  terhadap gas  $CO_2$

waktu	$CO_2$ (ml)							
	0	0.5	1	1.5	2	4	6	7.5
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
15	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
30	11.0	10.0	8.0	7.5	5.0	4.5	4.0	1.5



lanjutan

komposisi dan analisa

waktu	CO <sub>2</sub> (ml)							
	0	0.5	1	1.5	2	4	6	7.5
45	23.5	20.5	17.5	15.0	11.5	10.5	8.0	5.0
60	47.5	32.5	27.5	25.0	21.5	17.5	13.0	11.0
75	62.5	50.0	42.5	37.5	33.0	31.0	28.0	24.0
90	82.5	71.0	63.0	52.5	47.5	49.0	46.0	37.5
105	105.5	93.0	85.0	72.5	65.0	67.5	62.0	48.0
120	132.0	115.0	108.0	98.0	85.0	86.0	77.0	55.0
135	153.0	132.5	127.5	118.0	102.0	100.0	86.0	59.0
150	178.5	147.5	143.0	137.5	119.0	109.0	90.5	62.0
165	213.0	162.5	159.5	150.0	135.0	117.5	94.0	64.0
180	249.0	177.5	170.0	161.5	149.0	124.0	95.5	66.0

Tabel 4.5 Pengaruh CuCl<sub>2</sub> terhadap gas CO<sub>2</sub>

waktu	CO <sub>2</sub> (ml)							
	0	0.5	1	2.5	4	6	7.5	9
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
15	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
30	11.5	10.5	10.0	8.5	7.5	7.0	6.5	2.0
45	28.0	26.5	22.5	20.0	18.0	16.0	12.0	10.0
60	51.0	48.0	43.0	38.0	34.0	32.0	24.0	20.0
75	74.0	70.0	66.0	60.0	58.0	46.0	37.0	32.0
90	97.0	92.0	88.0	80.0	78.5	68.0	48.0	44.0
105	121.5	113.0	109.0	104.0	104.0	84.0	68.0	58.0
120	145.0	134.0	130.0	123.0	121.5	102.0	85.0	70.0
135	166.0	158.0	150.0	142.0	141.0	118.0	100.0	80.0
150	190.0	180.0	173.0	161.0	159.0	130.0	112.0	90.0
165	219.5	197.0	186.0	172.0	162.5	137.0	120.0	94.0
180	249.5	213.0	198.0	182.0	164.0	143.0	123.0	96.0

Tabel 4.6 Pengaruh limbah kertas terhadap gas CO<sub>2</sub>

waktu	CO <sub>2</sub> (ml)							
	0	50	100	250	500	1000	2000	4000
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
15	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
30	12.5	12.0	11.5	11.5	11.0	11.0	10.5	10.0
45	26.0	26.0	25.5	25.0	25.0	25.0	24.0	22.5
60	48.0	48.0	47.5	47.5	47.5	48.0	44.0	43.0
75	72.0	71.5	71.0	71.0	71.5	71.5	71.0	69.5
90	95.0	95.5	95.0	94.5	93.0	94.0	92.0	91.0
105	120.0	119.5	119.5	119.5	120.0	119.5	112.5	111.0
120	145.5	145.0	145.0	144.5	145.5	145.5	140.0	141.0
135	167.0	166.5	167.0	167.0	167.0	167.0	161.5	159.5
150	189.0	188.0	189.0	188.5	189.0	188.5	184.0	175.0
165	220.0	219.5	219.0	219.5	218.0	219.0	212.5	209.5
180	251.0	250.0	251.0	250.5	250.0	249.5	236.0	235.5

Dari data hasil pengamatan di atas dapat dihitung persentase penurunan gas  $\text{CO}_2$  yang dihasilkan dari proses fermentasi glukosa oleh *S. cerevisiae* karena pengaruh logam berat dan limbah kertas.

Contoh perhitungan untuk menghitung persentase penurunan gas  $\text{CO}_2$  karena pengaruh  $\text{CdSO}_4$  sebesar 0,5 ppm adalah sebagai berikut:

$$\begin{aligned} \%i &= \frac{(V_{\text{blanko}} - V_{\text{sampel}}) \times 100\%}{V_{\text{blanko}}} \\ &= (252 - 165) / 252 \times 100 \% \\ &= 34,52 \% \end{aligned}$$

Untuk menentukan  $\text{LC}_{50}$  dari logam berat terhadap *S. cerevisiae* didapatkan dari analisa regresi konsentrasi vs persentase penurunan gas  $\text{CO}_2$  (perhitungan terdapat dalam lampiran). Adapun keseluruhan perhitungan persentase penurunan gas  $\text{CO}_2$  adalah seperti pada tabel-tabel berikut.

Tabel 4.7 Persentase penurunan  $\text{CO}_2$  karena  $\text{CdSO}_4$

konsentrasi (ppm)	$\text{CO}_2$ (ml)	%i
0	252	0.00
0.5	165	34.52
1.0	137	45.63
1.5	115	54.36
2.0	74	70.63
2.5	50	80.16
3.5	6	97.62
5.0	1.5	99.40

Tabel 4.8 Persentase penurunan  $\text{CO}_2$  karena  $\text{HgCl}_2$

konsentrasi (ppm)	CO (ml)	%I
0	252.0	0.00
1.5	167.5	33.53
2.0	142.5	43.45
4.0	79.0	68.65
5.0	58.0	79.98
7.5	37.5	85.12
10.0	12.5	95.04
12.5	4.5	98.21

Tabel 4.9 Persentase penurunan  $\text{CO}_2$  karena  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$

konsentrasi (ppm)	CO (ml)	%I
0	252.5	0.00
0.5	196.0	22.38
1.0	143.0	43.37
2.5	135.5	46.34
3.0	121	52.08
5.0	117.5	53.46
6.0	84	66.73
7.5	65	74.26

Tabel 4.10 Persentase penurunan  $\text{CO}_2$  karena  $\text{ZnSO}_4$

konsentrasi (ppm)	CO (ml)	%I
0	249	0.00
0.5	177.5	28.71
1.0	170	31.73
1.5	161.5	35.14
2.0	149	40.16
4.0	124	50.20
6.0	95.5	61.65
7.5	66	73.49

Tabel 4.11 Persentase penurunan  $\text{CO}_2$  karena  $\text{CuCl}_2$

konsentrasi (ppm)	$\text{CO}_2$ (ml)	%I
0	249.5	0.00
0.5	215	13.83
1.0	198	20.64
2.5	182	27.05
4.0	164	34.27
6.0	143	42.68
7.5	123	50.70
9.0	96	61.52

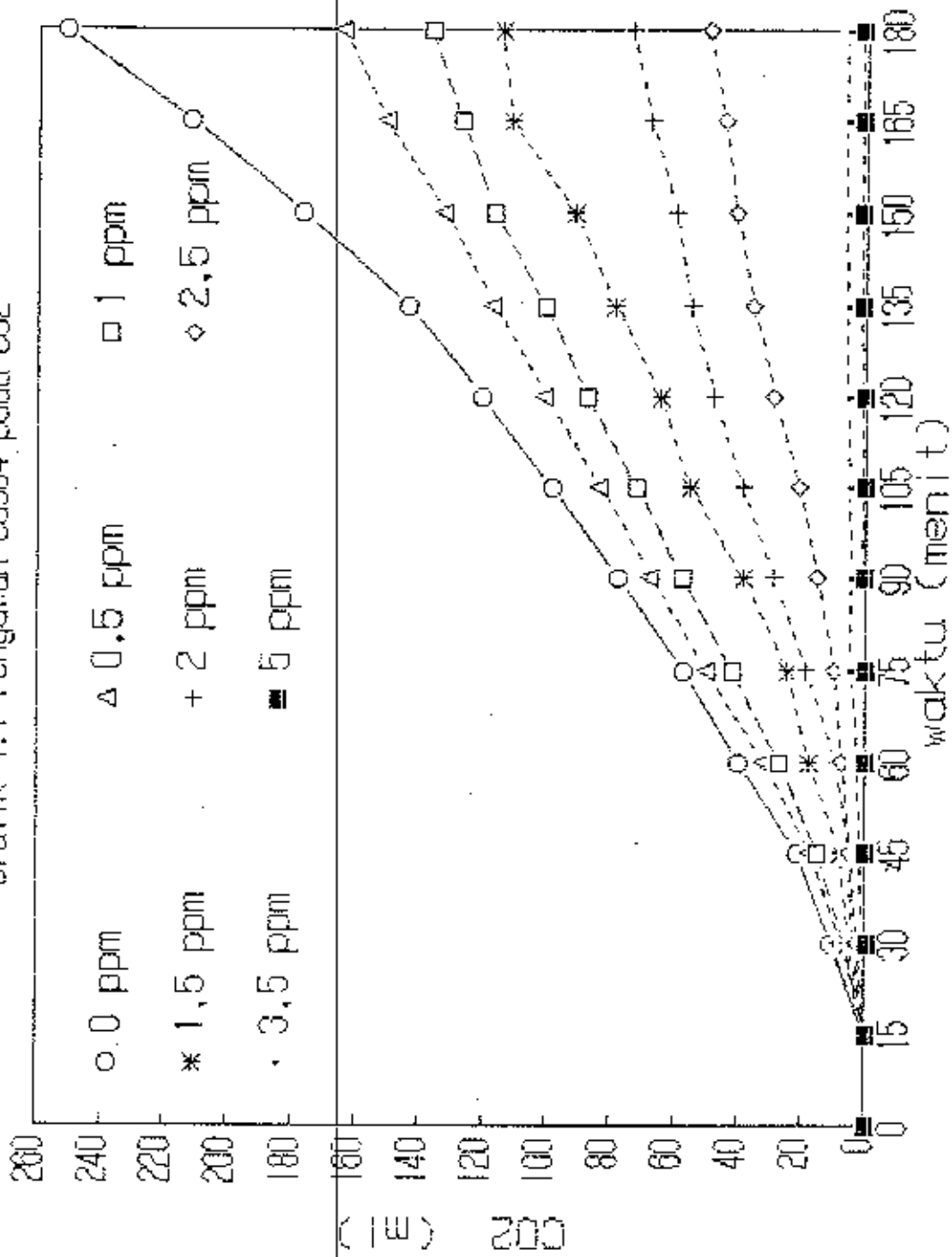
Tabel 4.12 Persentase penurunan  $\text{CO}_2$  karena limbah kertas

konsentrasi (ppm)	$\text{CO}_2$ (ml)	%I
0	251	0.00
50	250	0.398
100	251	0.00
250	250.5	0.199
500	250	0.398
1000	249.5	0.597
2000	236	5.98
4000	235.5	6.17

#### 4.2 ANALISA PENGARUH LOGAM BERAT DAN LIMBAH KERTAS TERHADAP GAS $\text{CO}_2$

Data hasil pengamatan pada Tabel 4.1 sampai dengan Tabel 4.12 digambarkan pada Grafik 4.1 sampai dengan Grafik 4.12. Dari grafik-grafik tersebut akan dapat dianalisa lebih lanjut mengenai pengaruh logam berat dan limbah kertas terhadap *S. cerevisiae*. Adapun pembahasan tersebut dijelaskan pada halaman berikut.

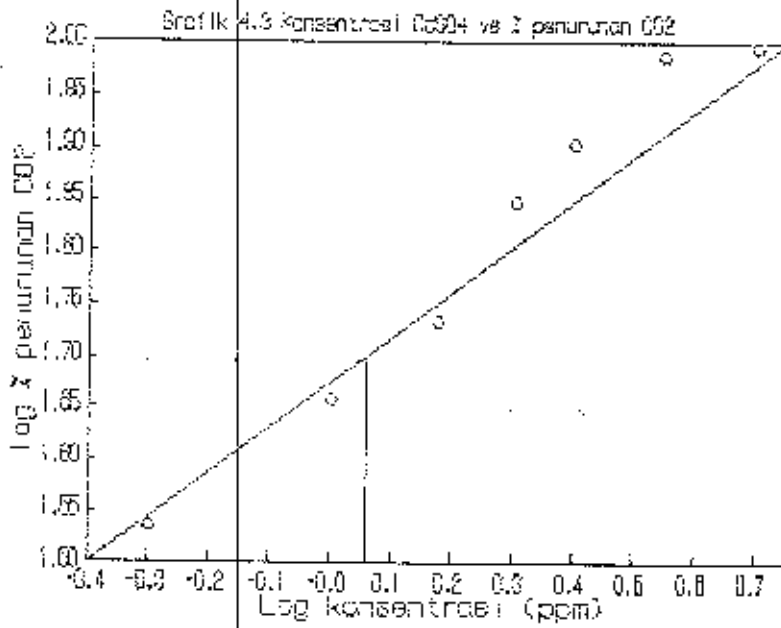
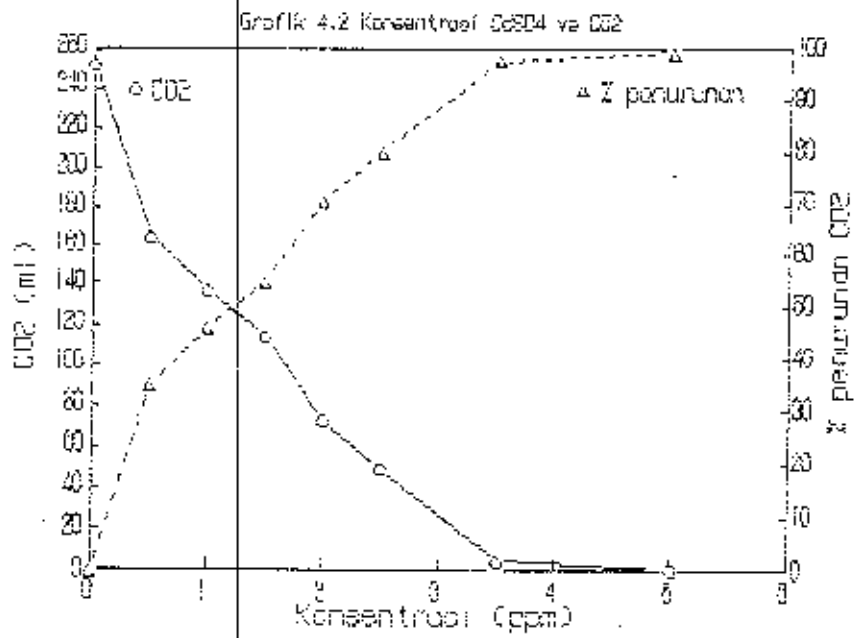
Grafik 4.1 Pengaruh CdSO<sub>4</sub> pada OD2



#### 4.1.1 ANALISA PENGARUH $CdSO_4$ <sup>11</sup>

Dari grafik 4.1 terlihat bahwa dengan penambahan senyawa  $CdSO_4$  menurunkan volume gas  $CO_2$  yang dihasilkan selama proses fermentasi glukosa oleh *S. cerevisiae*.  $CdSO_4$  bersifat toksik terhadap *S. cerevisiae*. Adapun mekanisme interaksi logam dengan sel dapat dijelaskan sebagai berikut:

1. Selama proses kontaminasi, ion-ion logam akan menembus dinding sel dan membran plasma sebelum masuk ke dalam sel. Dinding sel *S. cerevisiae* yang bagian luarnya tersusun oleh polisakarida akan mengikat ion  $Cd^{2+}$  karena polisakarida bersifat anionik. Dengan berikatannya ion Cd dengan polisakarida maka muatan di permukaan sel menjadi netral sehingga mempengaruhi transportasi gula, laktat, gliserol, dan kation (Passow dan Rothstein, 1960; Champoo et.al., 1976; Bogucka dan Wojtczak, 1979; Arhem, 1980; Klip et.al., 1980; Rothstein, 1982). Keseimbangan ion  $H^+$  yang terjadi di dalam dan luar sel akan mempengaruhi transportasi ion Cd ke dalam sel. Ion Cd yang telah menembus dinding sel akan berikatan dengan plasma membran yang tersusun dari senyawa protein. Kemudian berkontak dengan organel sel (vakuola), di mana di dalam organel tersebut banyak terdapat senyawa protein. Ikatan Cd dengan senyawa protein membentuk senyawa kompleks yang stabil.



Ikatan ini mempengaruhi metabolisme yang ada di dalam sel, sebab enzim (yang tersusun dari protein) tidak dapat bekerja sebagaimana mestinya.

2. Dari Grafik 4.2 terlihat bahwa pada konsentrasi Cd lebih dari 3,5 ppm menyebabkan penurunan gas  $\text{CO}_2$  lebih dari 90% dan pada konsentrasi 0,5% menyebabkan penurunan sekitar 30%.

Dari Grafik 4.3 (analisa regresi) didapatkan bahwa ion cadmium dari senyawa  $\text{CdSO}_4$  mempunyai nilai  $\text{EC}_{50}$  terhadap *S. cerevisiae* adalah sebesar 1,150 ppm (waktu paparan selama 3 jam).

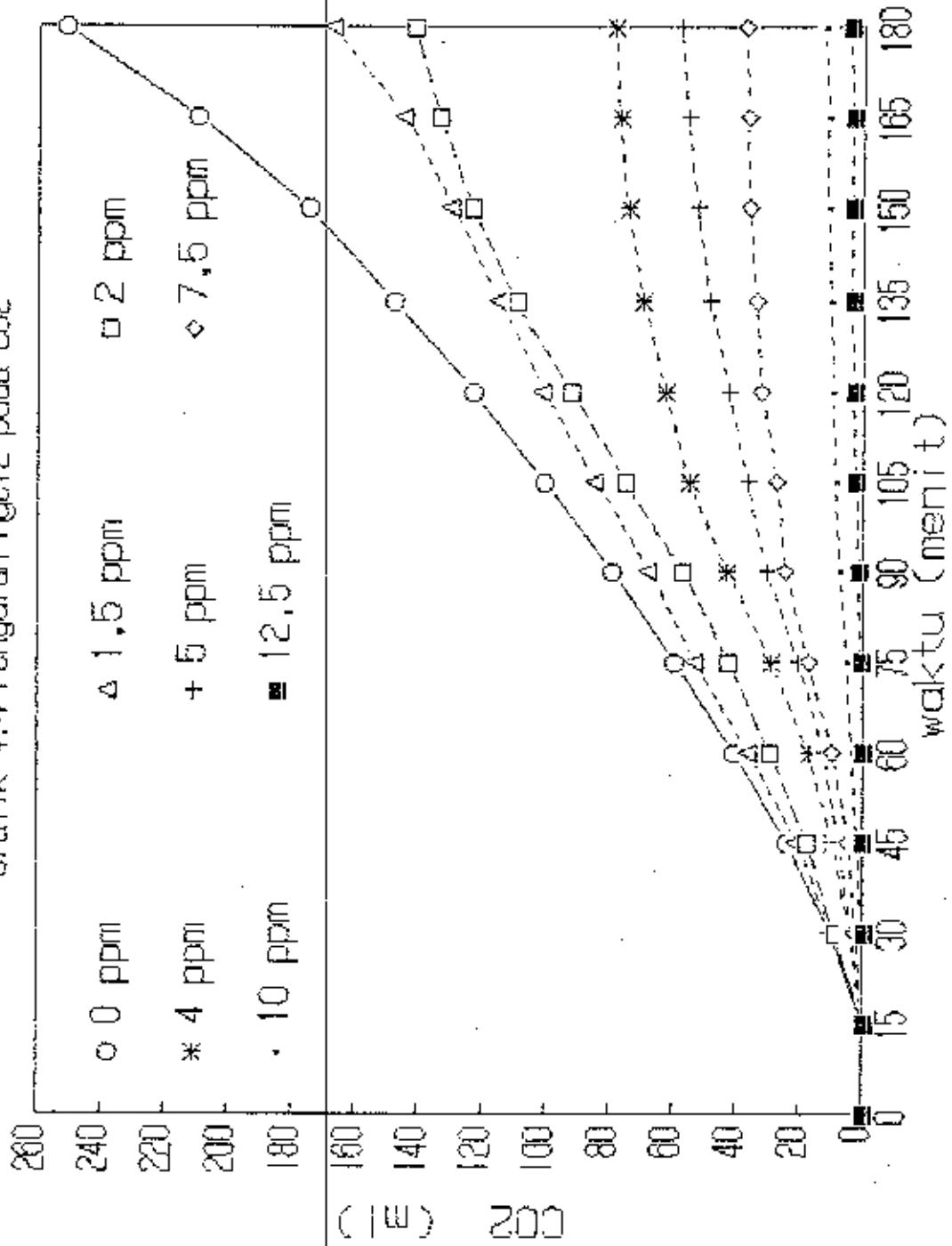
#### 4.1.2 ANALISA PENGARUH $\text{HgCl}_2$

Dari Grafik 4.4 terlihat bahwa dengan penambahan metil merkuri ke dalam sistem akan menurunkan produksi gas  $\text{CO}_2$ . Adapun penyebab penurunan tersebut dapat dijelaskan sebagai berikut:

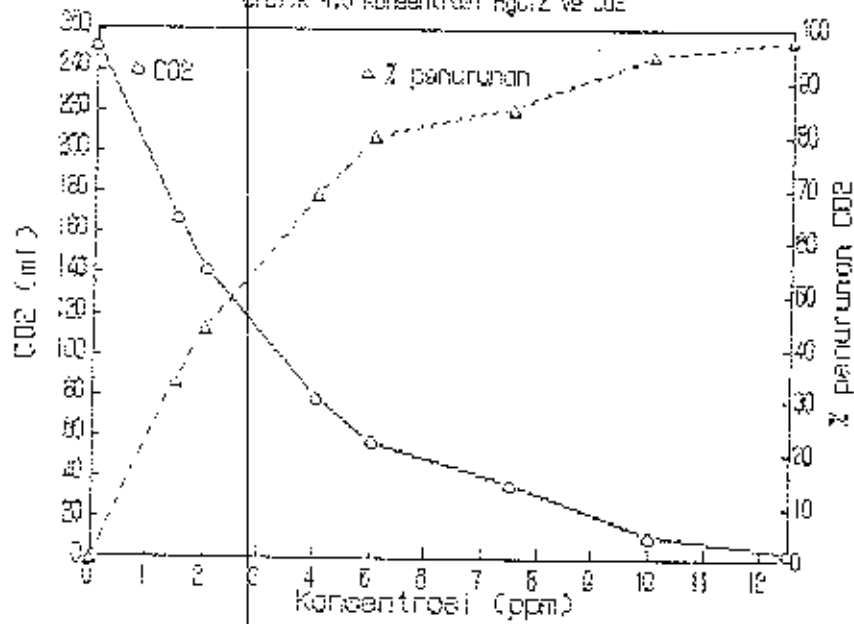
1. Selama proses kontaminasi, ion-ion logam akan menembus dinding sel dan membran plasma sebelum masuk ke dalam sel. Dinding sel dan membran plasma mempunyai peranan penting di dalam meloloskan ion logam ke dalam sel. Telah dijelaskan pada butir 2.2.5 bahwa dinding sel ragi bagian luar tersusun atas polisakarida. Gugus ini bermuatan negatif (bersifat anionik) sehingga merupakan biosorban yang sangat efektif terhadap ion merkuri.



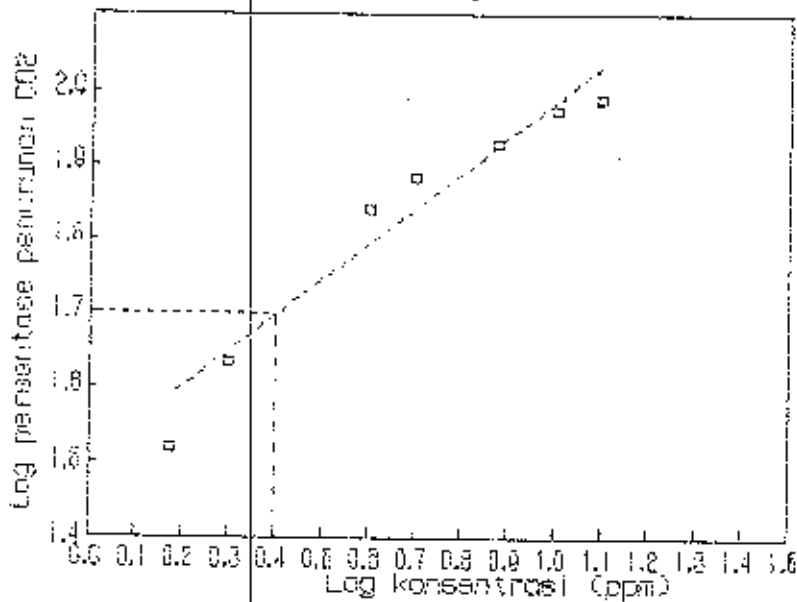
Grafik 4.4 Pengaruh HgCl<sub>2</sub> pada CO<sub>2</sub>



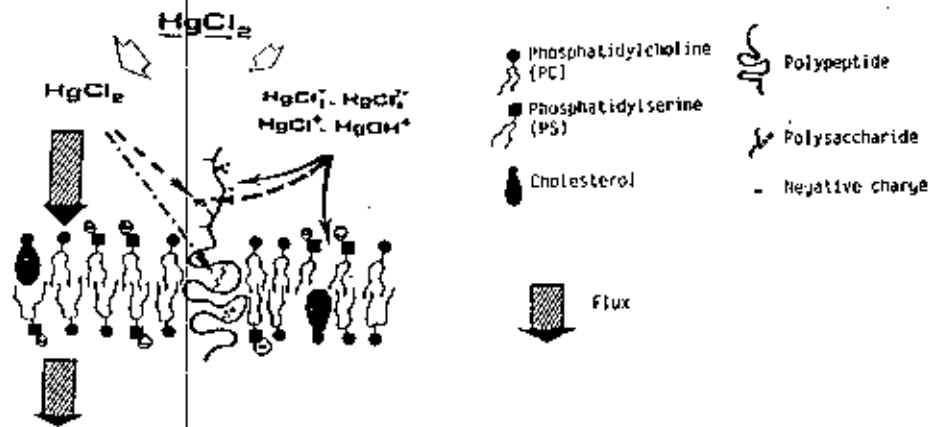
Grafik 4.5 konsentrasi  $HgCl_2$  ve  $CO_2$



Grafik 4.6 konsentrasi  $HgCl_2$  ve  $CO_2$



Proses adsorpsi karena perbedaan muatan mungkin salah satu dari mekanisme fiksasi yang terjadi di dalam hubungan dengan penempatan gugus  $\text{SH}^-$  pada protein. Mekanisme ini mempengaruhi transportasi gula, laktat, gliserol, dan kation (Passow dan Rothstein, 1960; Shamoo et.al., 1976; Bogucka dan Wojtczak, 1979; Arhem, 1980; Klip et.al., 1980; Rothstein, 1982). Spesies netral seperti  $\text{HgCl}_2$  bertanggung jawab terhadap transportasi dari kebanyakan ion merkuri melalui lapisan lipida dengan cara difusi seperti tampak pada gambar 4.1 berikut ini.



Gambar 4.1 Fiksasi dan transportasi senyawa merkuri

2. Ion merkuri yang telah melewati dinding sel dan membran plasma akan berkontak dengan organel sel seperti vakuola. Mekanisme masuknya ion merkuri dari sitoplasma menuju vakuola seperti pada gambar 2.17. Keseimbangan

ion  $H^+$  yang ada di dalam sel mempengaruhi laju transportasi ion merkuri ke dalam sel. Meskipun di dalam sitoplasma terjadi kesetimbangan ion  $H^+$  yang dihasilkan dari perubahan ATP menjadi ADP dan energi tetapi ion merkuri yang telah masuk ke dalam sitoplasma akan dengan mudah berikatan dengan senyawa protein. Senyawa-senyawa protein yang berikatan dengan merkuri membentuk senyawa kompleks yang stabil, sehingga senyawa protein seperti enzim tidak dapat melakukan aktivitasnya semula. Hal ini mengakibatkan kesetimbangan di dalam sel berubah dan metabolisme di dalam sel akan mengalami gangguan atau berhenti.

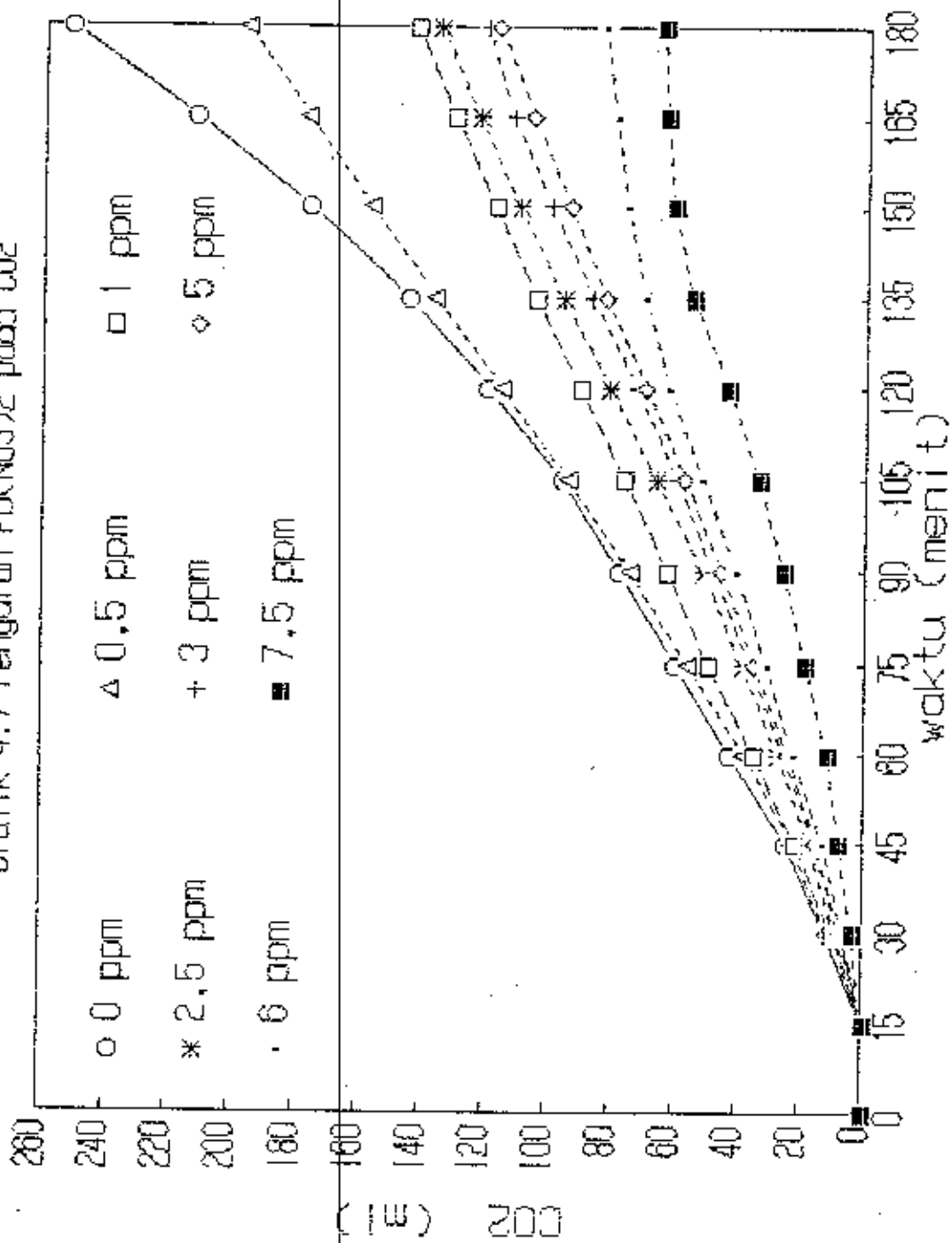
2. Dari grafik 4.6 (analisa regresi) didapatkan bahwa ion merkuri dari senyawa  $HgCl_2$  mempunyai nilai  $LC_{50}$  terhadap *S. cerevisiae* adalah sebesar 2,52 ppm (waktu paparan selama 3 jam).

#### 4.1.3 ANALISA PENGARUH $Pb(NO_3)_2$

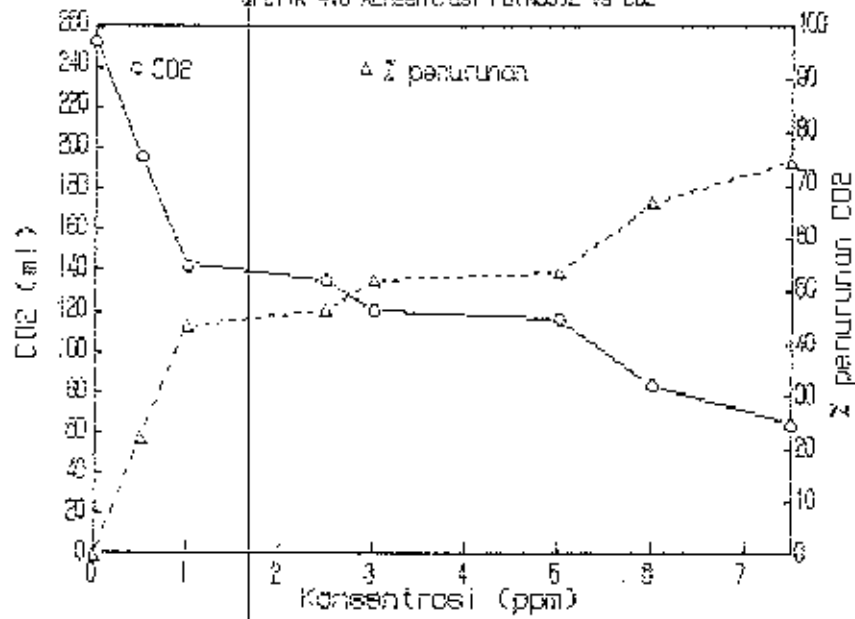
Penurunan produksi gas  $CO_2$  yang disebabkan oleh timbal nitrat disebabkan daya toksik timbal terhadap sel *S. cerevisiae*. Adapun mekanisme interaksi logam dengan sel dapat dijelaskan sebagai berikut:

1. Ion-ion logam akan menembus dinding sel dan membran plasma sebelum masuk ke dalam sel. Dinding sel dan membran plasma mempunyai peranan penting di dalam

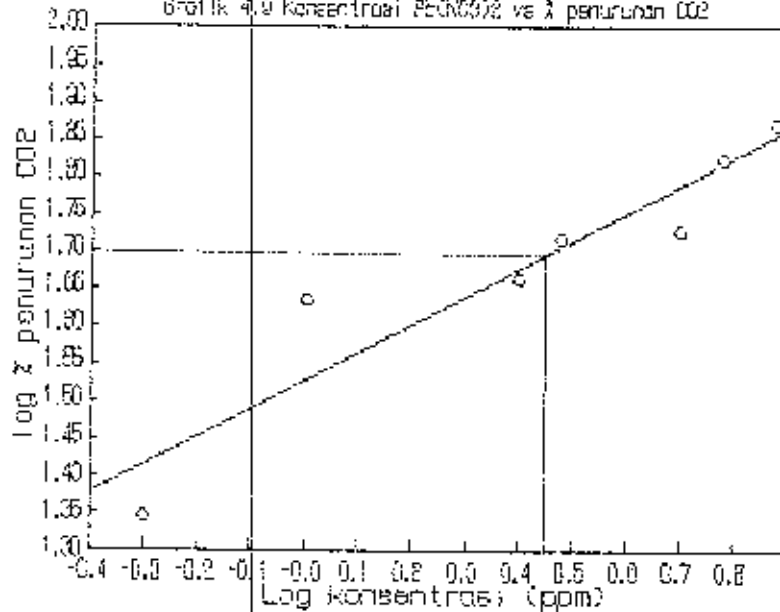
Grafik 4.7 Pengaruh  $Pb(NO_3)_2$  pada  $CO_2$



Grafik 4.8 konsentrasi  $Pb(NO_3)_2$  vs  $CO_2$



Grafik 4.9 Konsentrasi  $Pb(NO_3)_2$  vs  $\lambda$  penurunan  $CO_2$



meloloskan ion logam ke dalam sel. Seperti telah dijelaskan pada butir 2.2.5 bahwa dinding sel ragi bagian luar tersusun atas gugus polisakarida.

Gugus ini bermuatan negatif (bersifat anionik) sehingga merupakan biosorban yang sangat efektif terhadap ion timbal. Mekanisme ini mempengaruhi transportasi gula, laktat, gliserol, dan kation (Passow dan Rothstein, 1960; Shampo et.al., 1976; Bogucka dan Wojtczak, 1979; Arhem, 1980; Klip et.al., 1980; Rothstein, 1982).

2. Ion timbal yang telah melewati dinding sel dan membran plasma akan berkontak dengan organel sel seperti vakuola. Mekanisme masuknya ion timbal dari sitoplasma menuju vakuola seperti pada Gambar 2.17.
3. Di dalam vakuola ion timbal akan berikatan dengan gugus senyawa organik tersebut membentuk senyawa kompleks yang stabil. Ikatan ini mempengaruhi metabolisme yang ada di dalam sel.
4. Dari Grafik 4.9 didapatkan bahwa ion timbal dari senyawa  $Pb(NO_3)_2$  mempunyai nilai  $EC_{50}$  terhadap *S. cerevisiae* adalah sebesar 2,820 (waktu paparan selama 3 jam).

#### 4.1.4 ANALISA PENGARUH $ZnSO_4$

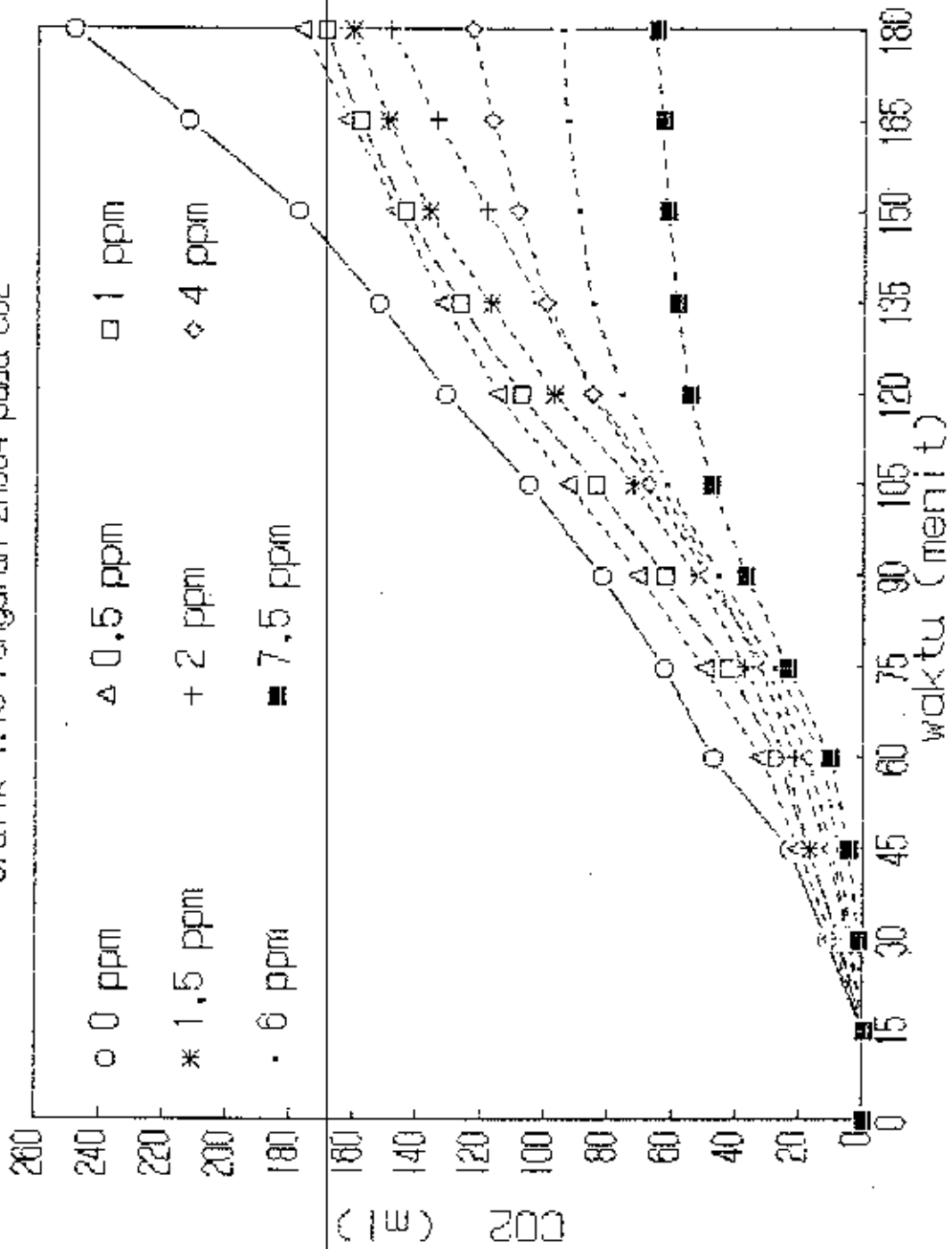
Dari Grafik 4.10 tampak bahwa dengan menambahkan

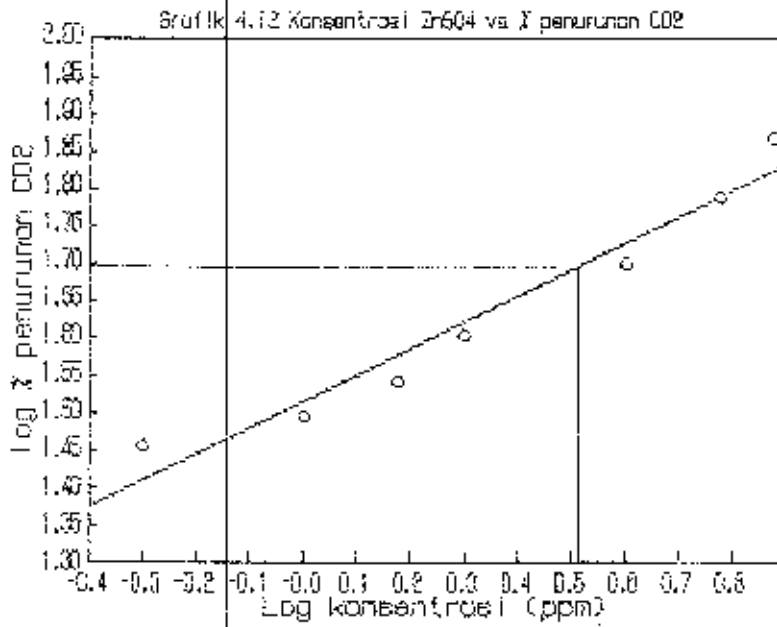
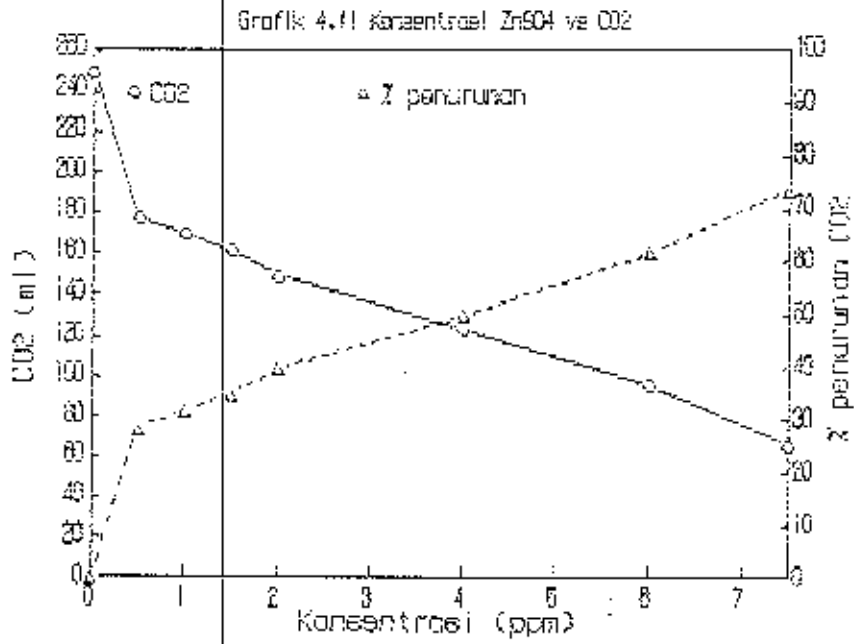
senyawa seng sulfat ke dalam sistem akan mempengaruhi gas  $\text{CO}_2$  yang dihasilkan selama proses fermentasi glukosa oleh *S. cerevisiae*. Hal ini disebabkan karena kegiatan metabolisme di dalam sel mengalami gangguan karena adanya penambahan senyawa seng sulfat. Adapun mekanisme interaksi logam dengan sel dapat dijelaskan sebagai berikut:

1. Ion-ion seng akan menembus dinding sel dan membran plasma menuju ke dalam sel. Dinding sel dan membran plasma mempunyai peranan penting di dalam meloloskan ion logam ke dalam sel. Seperti penjelasan pada butir 2.2.5 bahwa dinding sel raqi bagian luar tersusun atas gugus polisakarida. Gugus ini bermuatan negatif (bersifat anionik) sehingga merupakan biosorban yang sangat efektif terhadap ion seng. Mekanisme ini mempengaruhi transportasi nutrisi (Passow dan Rothstein, 1960; Shamoo et.al., 1976; Bogucka dan Wojtczak, 1979; Arhem, 1980; Klip et.al., 1980; Rothstein, 1982).
2. Ion seng yang telah melewati dinding sel dan membran plasma akan berkontak dengan organel sel. Mekanisme masuknya ion seng dari sitoplasma menuju vakuola seperti pada Gambar 2.17.
3. Di dalam sitoplasma atau organel sel banyak terdapat senyawa protein, misalnya enzim, RNA, atau DNA.



Grafik 4.10 Pengaruh  $ZnSO_4$  pada  $CO_2$





Ion seng dapat berikatan dengan gugus senyawa organik tersebut membentuk senyawa kompleks yang stabil. Ikatan ini mempengaruhi metabolisme yang ada di dalam sel. Pengaruh logam terhadap metabolisme ini tampak pada gas  $\text{CO}_2$  yang dihasilkan. Turunnya gas  $\text{CO}_2$  dibandingkan dengan larutan blanko menunjukkan bahwa proses fermentasi tersebut dipengaruhi oleh logam. Makin besar konsentrasi logam yang dipaparkan maka semakin besar pula penurunan gas  $\text{CO}_2$ .

4. Dari Grafik 4.12 didapatkan bahwa ion seng dari senyawa  $\text{ZnSO}_4$  mempunyai nilai  $\text{EC}_{50}$  terhadap adalah sebesar 3,270 ppm (waktu paparan selama 3 jam).

#### 4.1.5 ANALISA PENGARUH $\text{CuCl}_2$

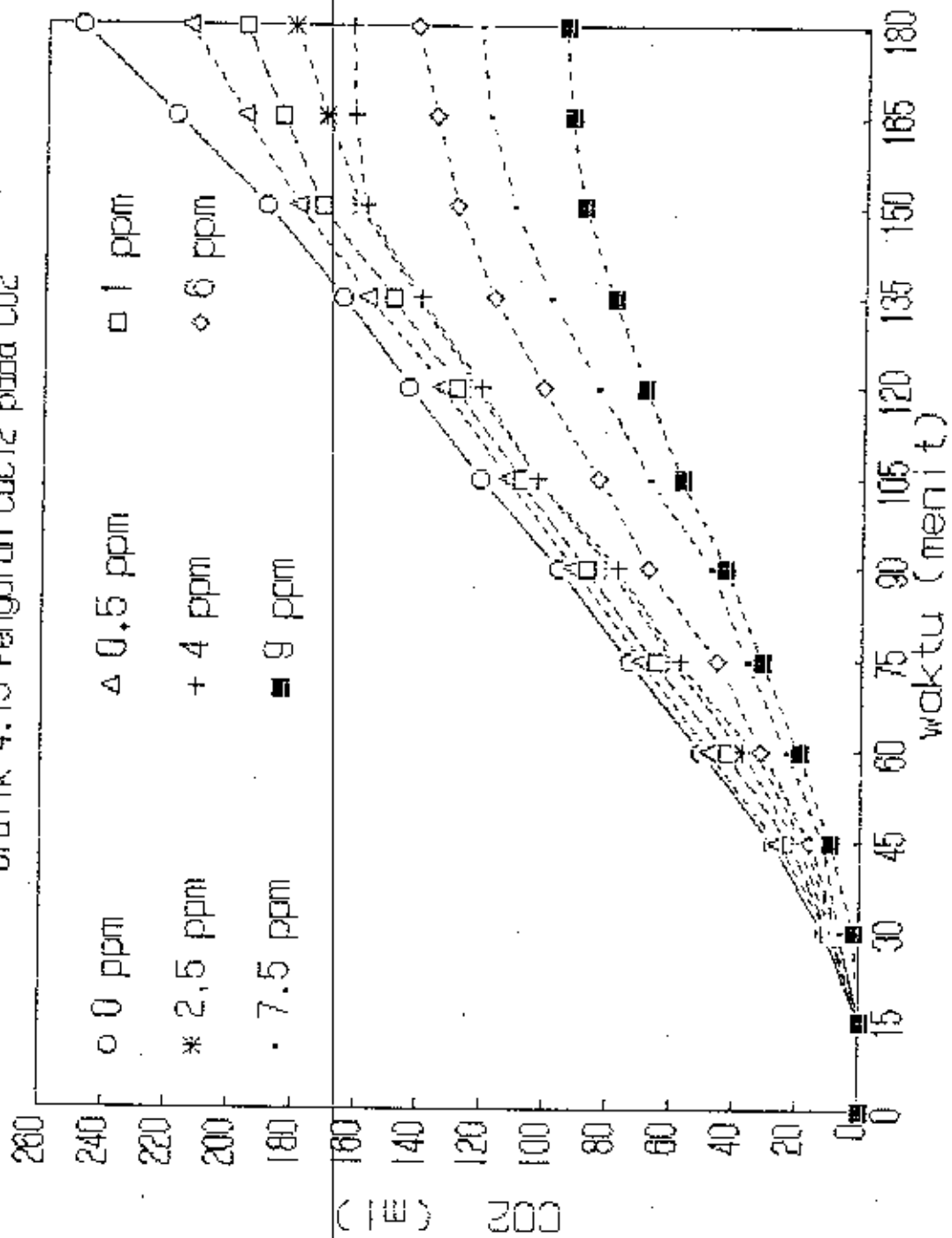
Dari Grafik 4.13 tampak bahwa dengan menambahkan senyawa tembaga klorida ke dalam sistem akan mempengaruhi gas  $\text{CO}_2$  yang dihasilkan selama proses fermentasi glukosa oleh *S. cerevisiae*. hal ini disebabkan karena kegiatan penambahan senyawa tembaga sulfat. Adapun mekanisme interaksi logam dengan sel dapat dijelaskan sebagai berikut:

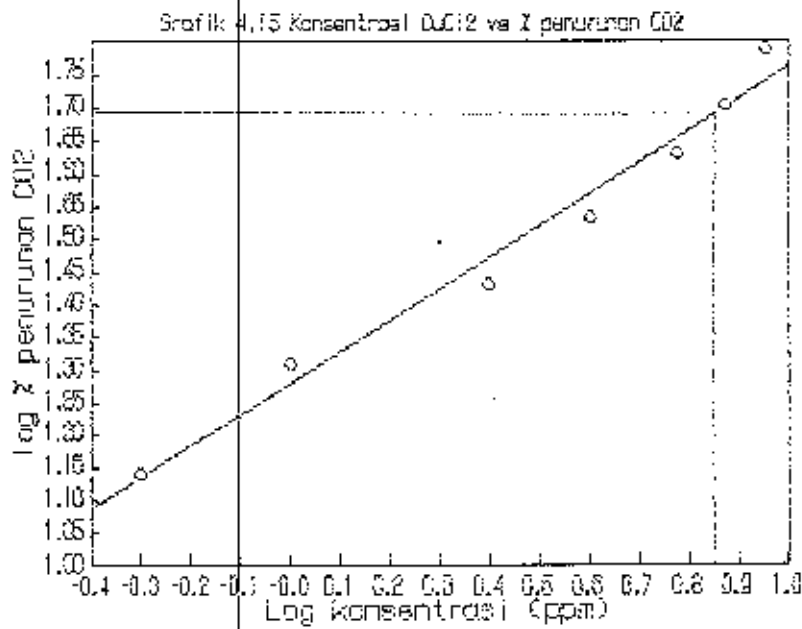
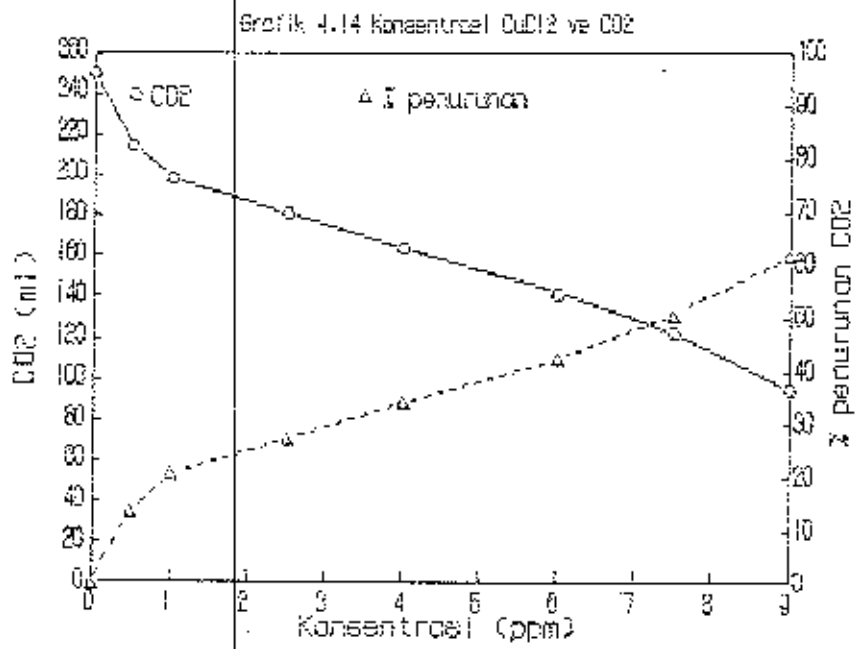
1. Ion-ion tembaga akan menembus dinding sel dan membran plasma sebelum masuk ke dalam sel. Dinding sel dan membran plasma mempunyai peranan penting di dalam meloloskan ion logam ke dalam sel. Seperti penjelasan

pada butir 2.2.5 bahwa dinding sel ragi bagian luar tersusun atas gugus polisakarida. Gugus ini bermuatan negatif (bersifat anionik) sehingga merupakan biosorban yang sangat efektif terhadap ion seng. Mekanisme ini mempengaruhi transportasi gula, laktat, gliserol, dan kation (Passow dan Rothstein, 1960; Shamoo et.al., 1976; Bogucka dan Wojtczak, 1979; Arhem, 1980; Klip et.al., 1980; Rothstein, 1982).

2. Ion seng yang telah melewati dinding sel dan membran plasma akan berkontak dengan organel sel. Mekanisme masuknya ion seng dari sitoplasma menuju vakuola seperti pada Gambar 2.17. Gradien ke luarnya ion  $H^+$  keluar dari sel mempengaruhi masuknya ion tembaga ke dalam sitoplasma dan vakuola.
3. Di dalam sitoplasma atau organel sel lainnya banyak terdapat senyawa protein, misalnya enzim, RNA, atau DNA. Ion tembaga dapat berikatan dengan gugus senyawa organik tersebut membentuk senyawa kompleks yang stabil. Ikatan ini mempengaruhi metabolisme yang ada di dalam sel. Misalnya perubahan ATP menjadi ADP dan energi atau sebaliknya.
4. Dari Grafik 4.15 didapatkan bahwa ion tembaga dari senyawa  $CuCl_2$  mempunyai nilai  $EC_{50}$  terhadap *S. cerevisiae* adalah sebesar 7,08 ppm (waktu paparan selama 3 jam).

Grafik 4.13 Pengaruh CuCl<sub>2</sub> pada CO<sub>2</sub>



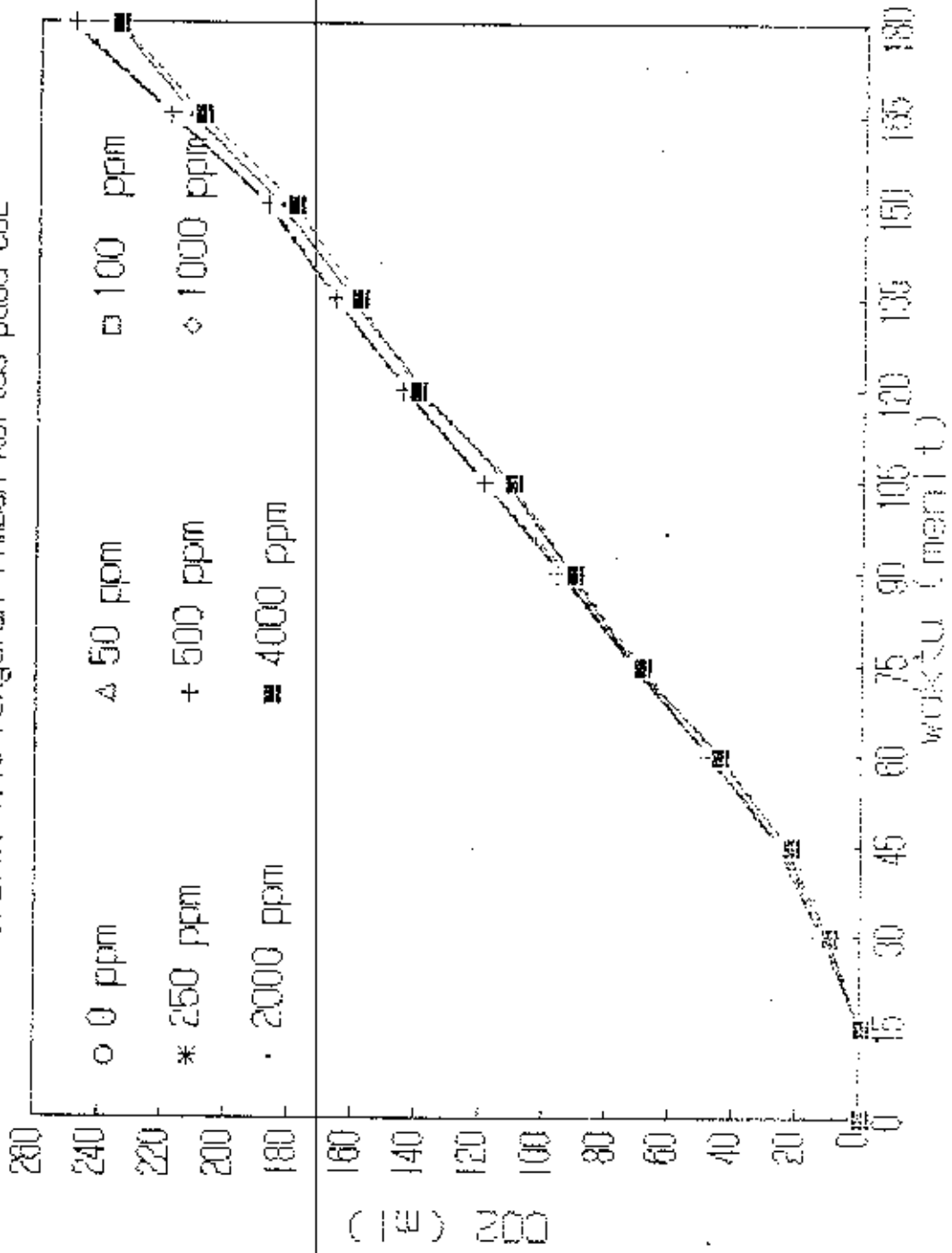


#### 4.1.6 ANALISA PENGARUH LIMBAH KERTAS

Pengaruh limbah kertas terhadap proses fermentasi glukosa oleh *S. cerevisiae* dipengaruhi oleh karakteristik limbah tersebut. Pada limbah black liquor yang bersifat basa (BOD limbah 2000 dan 4000 ppm) banyak mengandung selulose. Selulose adalah senyawa polisakarida kompleks yang tidak dapat disintesa oleh enzim-enzim di dalam sel *S. cerevisiae*. Karena sifat dinding sel, plasma membran dan enzim *S. cerevisiae* yang spesifik terhadap nutrien (senyawa organik) maka selulose tidak mempengaruhi metabolisme. Jadi penurunan gas  $\text{CO}_2$  yang terjadi pada nilai BOD limbah sebesar 2000 dan 4000 ppm disebabkan oleh pH limbah yang bersifat basa. Penurunan gas yang terjadi tidaklah sebesar penurunan karena pengaruh logam berat.

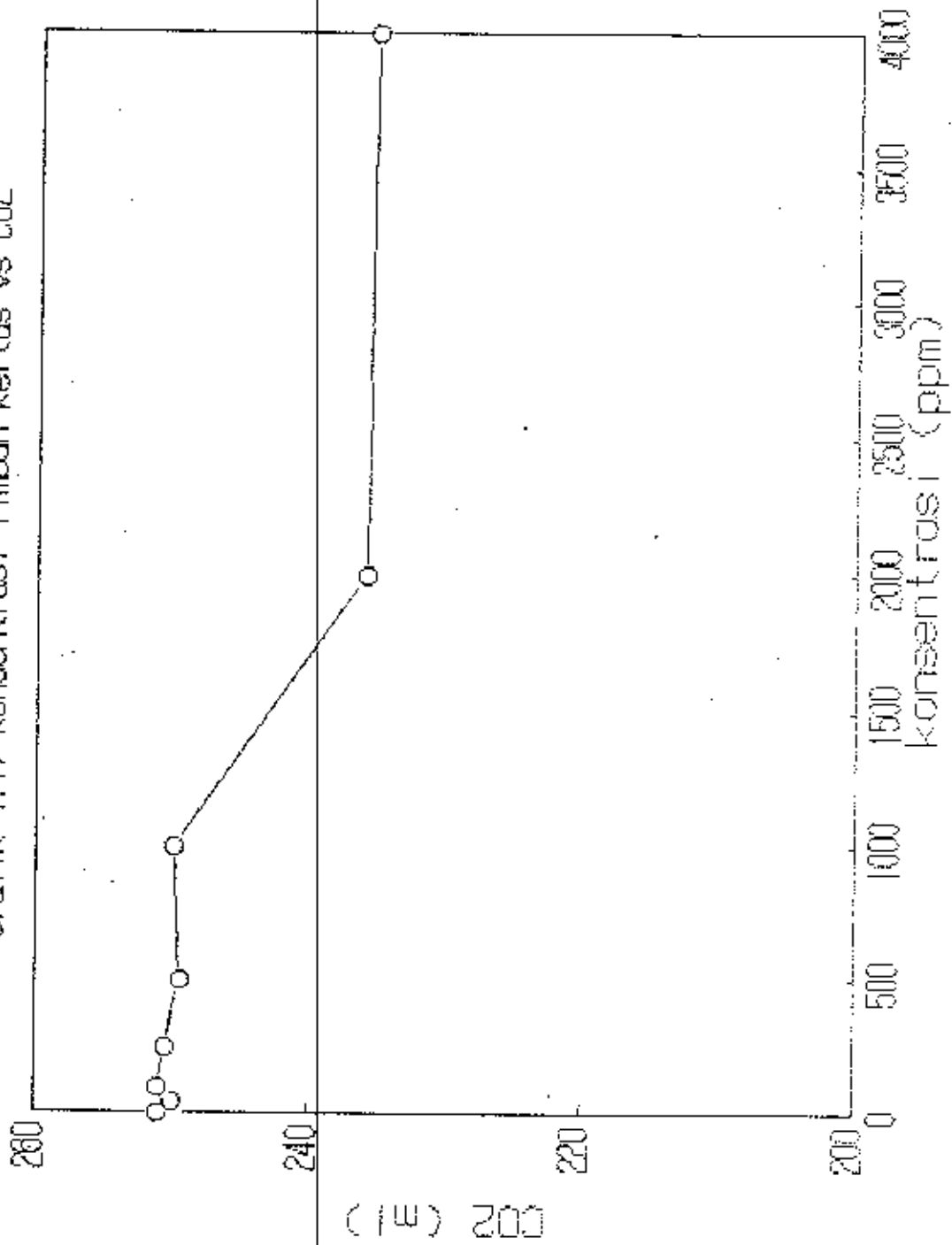
Sedangkan pengaruh limbah kertas yang bersifat asam (BOD limbah antara 50 sampai dengan 1000 ppm) tidak mempengaruhi proses fermentasi glukosa oleh *S. cerevisiae*.

Grafik 4.18 Pengaruh Limbah kertas pada CO<sub>2</sub>





Grafik 4.17 Konsentrasi Limbah kertas vs CO2



#### 4.3 HASIL PENGAMATAN TERHADAP PERTUMBUHAN

Adapun pengaruh logam berat dan limbah pengolahan kertas tersebut terhadap pertumbuhan koloni *S. cerevisiae* adalah seperti yang tercantum dalam tabel berikut ini.

Tabel 4.13 Pengaruh  $CdSO_4$  terhadap pertumbuhan

kons.		waktu (jam)				
		0	1	2	3	4
0.0	29700	32000	41000	61000	110000	237000
0.5	29700	31000	35000	45000	68000	118000
1.0	29700	31000	34000	41000	59000	108000
1.5	29700	30000	32000	38000	51000	76000
2.0	29700	29800	31000	36000	42000	52000
2.5	29700	29800	29900	33000	37000	45000
3.5	29700	29700	29800	29900	30000	31000
5.0	29700	29700	29800	29800	29900	30000

Tabel 4.14 Pengaruh  $HgCl_2$  terhadap pertumbuhan

kons.		waktu (jam)				
		0	1	2	3	4
0.0	29700	31000	42000	68000	128000	234000
1.5	29700	30000	39000	61000	87000	117000
2.5	29700	30000	35000	48000	67000	97000
4.0	29700	30000	33000	39000	47000	56000
5.0	29600	30000	32000	37000	42000	48000
7.5	29700	29700	31000	33000	36000	40000
10.0	29600	29700	30000	31000	32000	33000
12.5	29700	29700	29800	27900	29900	30000

Tabel 4.15 Pengaruh  $Pb(NO_3)_2$  terhadap pertumbuhan

kons.	waktu (jam)					
	0	1	2	3	4	5
0.0	29600	31000	45000	81000	149000	237000
0.5	29700	30000	39000	60000	94000	153000
1.0	29700	29800	36000	49000	71000	97000
1.5	29700	29800	34000	44000	64000	92000
2.0	29700	29800	33000	39000	54000	80000
2.5	29700	29700	32000	38000	52000	78000
3.5	29700	29700	31000	36000	44000	59000
5.0	29700	29700	30000	34000	41000	50000

Tabel 4.16 Pengaruh  $ZnSO_4$  terhadap pertumbuhan

kons.	waktu (jam)					
	0	1	2	3	4	5
0.0	29700	32100	65700	112000	175000	236000
0.5	29600	32000	65000	98000	112000	128000
1.0	29700	31000	63000	96000	110000	119000
1.5	29700	30000	60000	91000	98000	113000
2.0	29600	29700	46000	65000	85000	101000
4.0	29600	29600	45000	57000	65000	82000
6.0	29700	29700	40000	52000	58000	65000
7.5	29600	29600	35000	42000	46000	51000

Tabel 4.17 Pengaruh  $CuCl_2$  terhadap pertumbuhan

kons.	waktu (jam)					
	0	1	2	3	4	5
0.0	29700	32000	54000	94000	152000	232000
0.5	29700	31000	50000	77000	120000	173000
1.0	29600	31000	44000	65000	105000	159000
2.5	29700	31000	42000	61000	88000	133000
4.0	29700	31000	39000	55000	77000	113000

lanjutan

kons.	waktu (jam)					
	0	1	2	3	4	5
6.0	29700	30000	36000	49000	69000	95000
7.5	29700	30000	35000	46000	60000	81000
9.0	29700	29700	34000	41000	52000	64000

Tabel 4.18 Pengaruh limbah kertas terhadap pertumbuhan

kons.	waktu (jam)					
	0	1	2	3	4	5
0	29600	31000	46000	80000	150000	238000
50	29700	30000	45000	81000	149000	236000
100	29700	31000	45000	80000	149000	237000
250	29700	29900	45000	79000	150000	237000
500	29700	31000	46000	81000	148000	237000
1000	29700	30000	44000	80000	148000	237000
2000	29700	29900	39000	76000	143000	209000
4000	29700	29800	38000	74000	142000	208000

Untuk menghitung persentase penurunan laju pertumbuhan *S. cerevisiae* karena pengaruh  $\text{CdSO}_4$  sebesar 0,5 ppm (interval waktu 5 jam) adalah sebagai berikut:

$$\begin{aligned}
 (1) \quad n &= \log (N_t / N_0) / \log 2 \\
 &= \log (1,18 \cdot 10^5 / 2,9698 \cdot 10^4) / 0,301 \\
 &= 0,598087
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 (2) \quad g &= t / n \\
 &= 5 \times 60 / 0,598087 \\
 &= 151,01 \text{ menit}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 (3) \quad k &= 1/g \\
 &= 1/151,01 \\
 &= 6,622 \cdot 10^{-3} / \text{menit}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 (4) \quad \%I &= \frac{(k_{\text{blanko}} - k_{\text{sampel}}) \times 100 \%}{k_{\text{blanko}}} \\
 &= (1 - 6,222 \cdot 10^{-3} / 9,995 \cdot 10^{-3}) \times 100 \% \\
 &= 33,75\%
 \end{aligned}$$

Hasil keseluruhan perhitungan adalah seperti pada tabel-tabel berikut ini.

Tabel 4.19 Penurunan laju pertumbuhan karena  $\text{CdSO}_4$

kons. (ppm)	n	g	$k^{-1}$ ( $10^{-3}$ )	%I
0.0	2.998	100.05	9.995	0.0
0.5	1.987	151.01	6.622	33.75
1.0	1.612	186.08	5.374	46.23
1.5	1.352	221.88	4.507	54.91
2.0	0.812	369.41	2.707	72.92
2.5	0.600	499.75	2.001	79.98
3.5	0.091	3585.51	1.789	97.21
5.0	0.034	8703.22	1.149	98.85

Tabel 4.20 Penurunan laju pertumbuhan karena  $\text{HgCl}_2$

kons. (ppm)	n	g	$k^{-1}$ ( $10^{-3}$ )	%I
0.0	2.979	100.70	9.930	0.0
1.5	1.974	151.95	6.581	33.73
2.0	1.712	175.19	5.708	42.52
4.0	0.926	323.94	3.087	68.51
5.0	0.692	433.27	2.308	76.76
7.5	0.441	680.74	1.469	85.21

lanjutan

10.0	0.136	2213.37	0.452	95.45
12.5	0.045	6626.91	0.151	90.48

Tabel 4.21 Penurunan laju pertumbuhan karena  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 

kons. (ppm)	n	g	$k^{-g}$ ( $10^{-g}$ )	%I
0.0	2.997	100.10	9.999	0.0
0.5	2.361	127.06	7.870	21.22
1.0	1.709	175.46	5.699	42.95
2.5	1.624	184.72	5.413	45.81
3.0	1.438	208.63	4.793	52.02
5.0	1.394	215.13	4.648	53.47
6.0	0.995	301.42	3.317	66.79
7.5	0.749	400.56	2.497	75.01

Tabel 4.22 Penurunan laju pertumbuhan karena  $\text{ZnSO}_4$ 

kons. (ppm)	n	g	$k^{-g}$ ( $10^{-g}$ )	%I
0.0	2.994	100.21	9.979	0.0
0.5	2.115	141.84	7.050	29.35
1.0	2.005	149.59	6.684	33.01
1.5	1.923	155.99	6.410	35.76
2.0	1.771	169.36	5.905	40.83
4.0	1.458	205.73	4.861	51.29
6.0	1.136	264.20	3.785	62.07
7.5	0.767	390.99	2.558	74.37

Tabel 4.23 Penurunan laju pertumbuhan karena  $\text{CuCl}_2$ 

kons. (ppm)	n	g	$k^{-g}$ ( $10^{-g}$ )	%I
0.0	2.967	101.10	9.891	0.0
0.5	2.545	117.86	8.484	14.22
1.0	2.346	127.84	7.821	20.93

lanjutan

2.5	2.165	138.57	7.216	27.84
4.0	1.931	155.37	6.436	34.93
6.0	1.685	178.03	5.617	43.21
7.5	1.449	207.07	4.831	51.61
9.0	1.167	268.67	3.722	62.37

Tabel 4.24 Penurunan laju pertumbuhan karena limbah kertas

kons. (ppm)	n	g	$k_{-g}$ ( $10^{-9}$ )	%I
0	2.994	100.20	9.980	0.0
50	2.982	100.60	9.940	0.39
100	2.994	100.20	9.980	0.00
250	2.989	100.38	9.962	0.18
500	2.983	100.57	9.943	0.37
1000	2.975	100.84	9.917	0.63
2000	2.817	106.49	9.390	5.91
4000	2.807	106.88	9.356	6.25

#### 4.4 ANALISA PENGARUH LOGAM BERAT DAN LIMBAH KERTAS TERHADAP PERTUMBUHAN

Data hasil pengamatan pada Tabel 4.13 sampai dengan Tabel 4.24 digambarkan pada Grafik 4.13 sampai dengan Grafik 4.24. Dari grafik-grafik tersebut akan dapat dianalisa lebih lanjut mengenai pengaruh logam berat dan limbah kertas terhadap *S. cerevisiae*. Adapun pembahasan tersebut dijelaskan pada halaman berikut.

##### 4.4.1 ANALISA PENGARUH $CdSO_4$

Dari Grafik 4.19 sampai dengan Grafik 4.21 terlihat

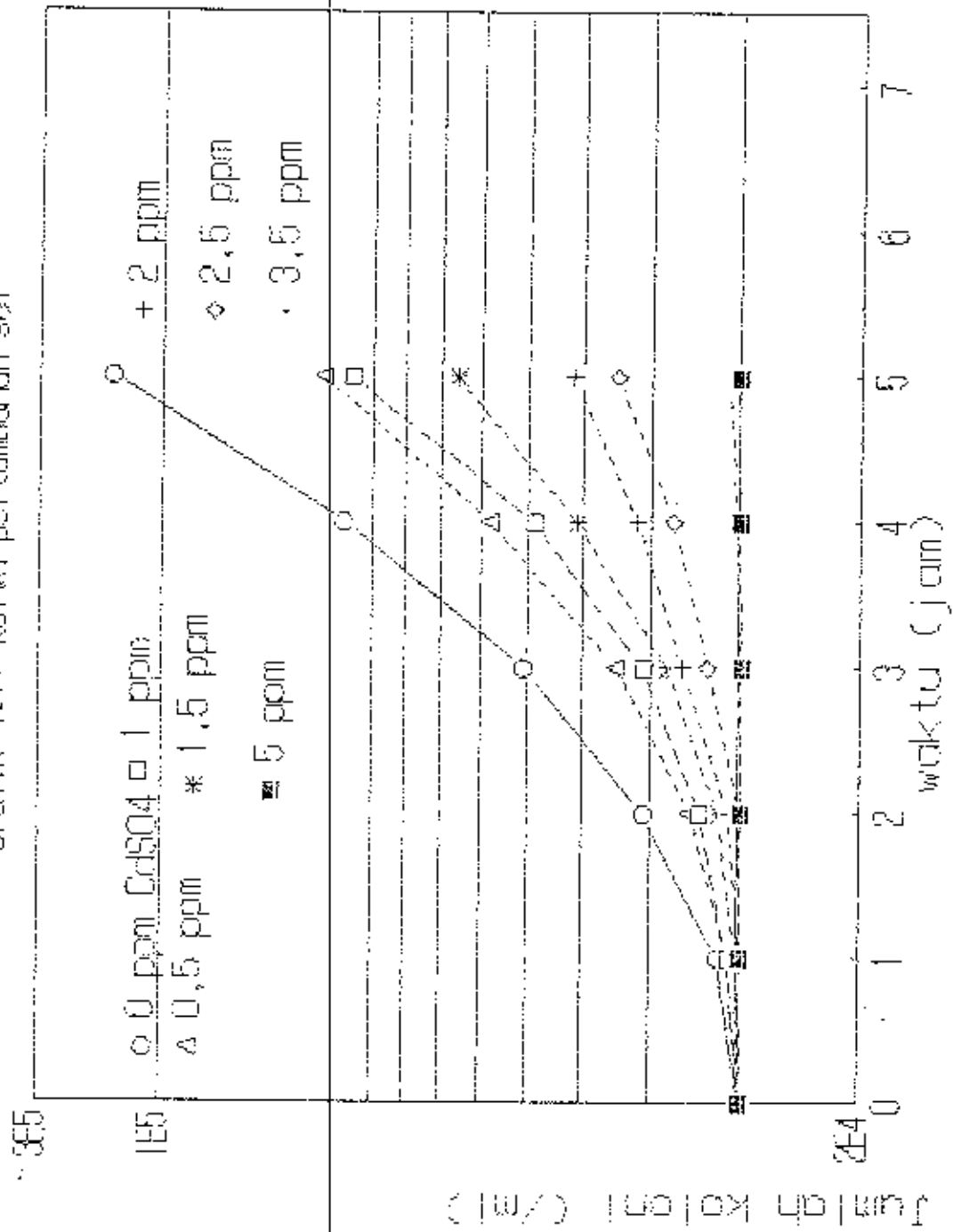
bahwa karena penambahan  $\text{CdSO}_4$  ke dalam sistem menyebabkan penurunan jumlah koloni *S. cerevisiae*. Semakin besar konsentrasi  $\text{CdSO}_4$  yang ditambahkan ke dalam lingkungan (media) *S. cerevisiae* maka penurunan pertumbuhan koloni juga makin besar. Penurunan jumlah koloni ini terjadi karena terjadi penurunan kerja enzim-enzim di dalam sel (karena berikatan dengan logam Cd) untuk mensintesa substrat (glukosa), sehingga energi untuk pertumbuhan berkurang. Karena adanya Cd di dalam lingkungan sel maka waktu regenerasi sel mengalami perpanjangan. Logam Cd juga menurunkan laju pertumbuhan sel *S. cerevisiae*. Konsentrasi Cd yang menyebabkan penurunan pertumbuhan sebesar 50%  $\text{EC}_{50}$  untuk waktu paparan 5 jam adalah sebesar 1,17 ppm.

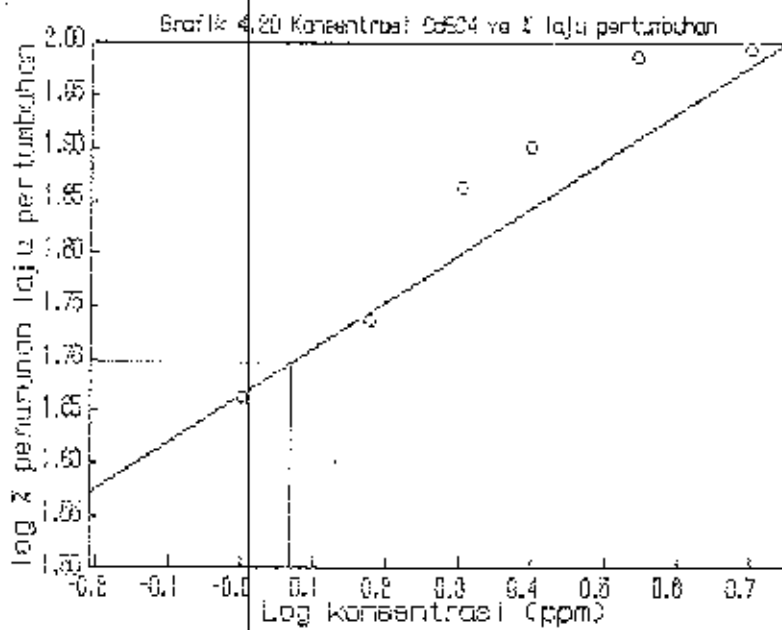
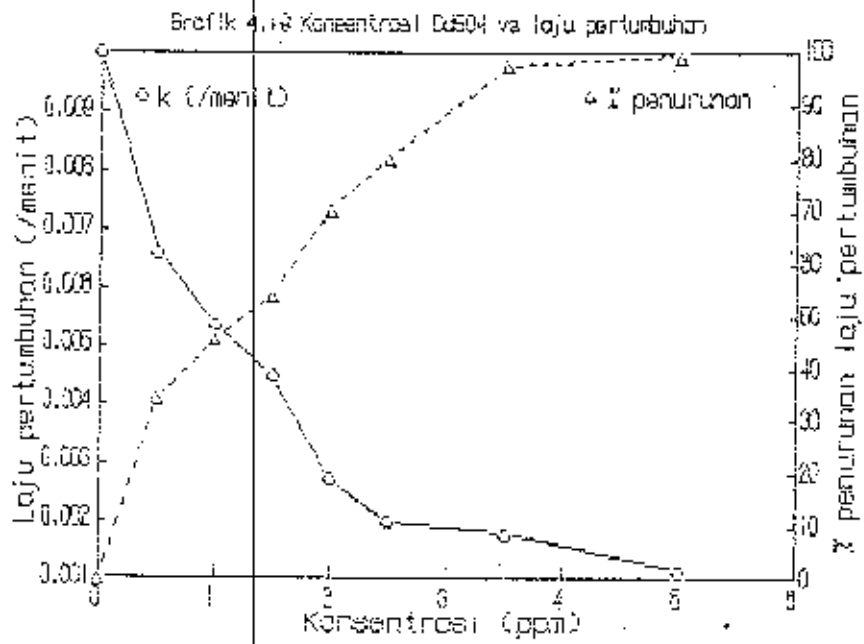
#### 4.4.2 ANALISA PENGARUH $\text{HgCl}_2$

Pengaruh logam merkuri terhadap pertumbuhan koloni *S. cerevisiae* terlihat pada Grafik 4.22 sedangkan pada Grafik 4.23 terlihat penurunan laju pertumbuhan. Penurunan pertumbuhan jumlah koloni berkaitan dengan penurunan gas  $\text{CO}_2$  hasil fermentasi glukosa oleh enzim-enzim *S. cerevisiae*. Karena energi dari proses fermentasi, yang digunakan untuk sintesa biologis, mengalami penurunan maka pertumbuhan sel juga terganggu (menurun).  $\text{EC}_{50}$  logam merkuri adalah sebesar 2,604 ppm.

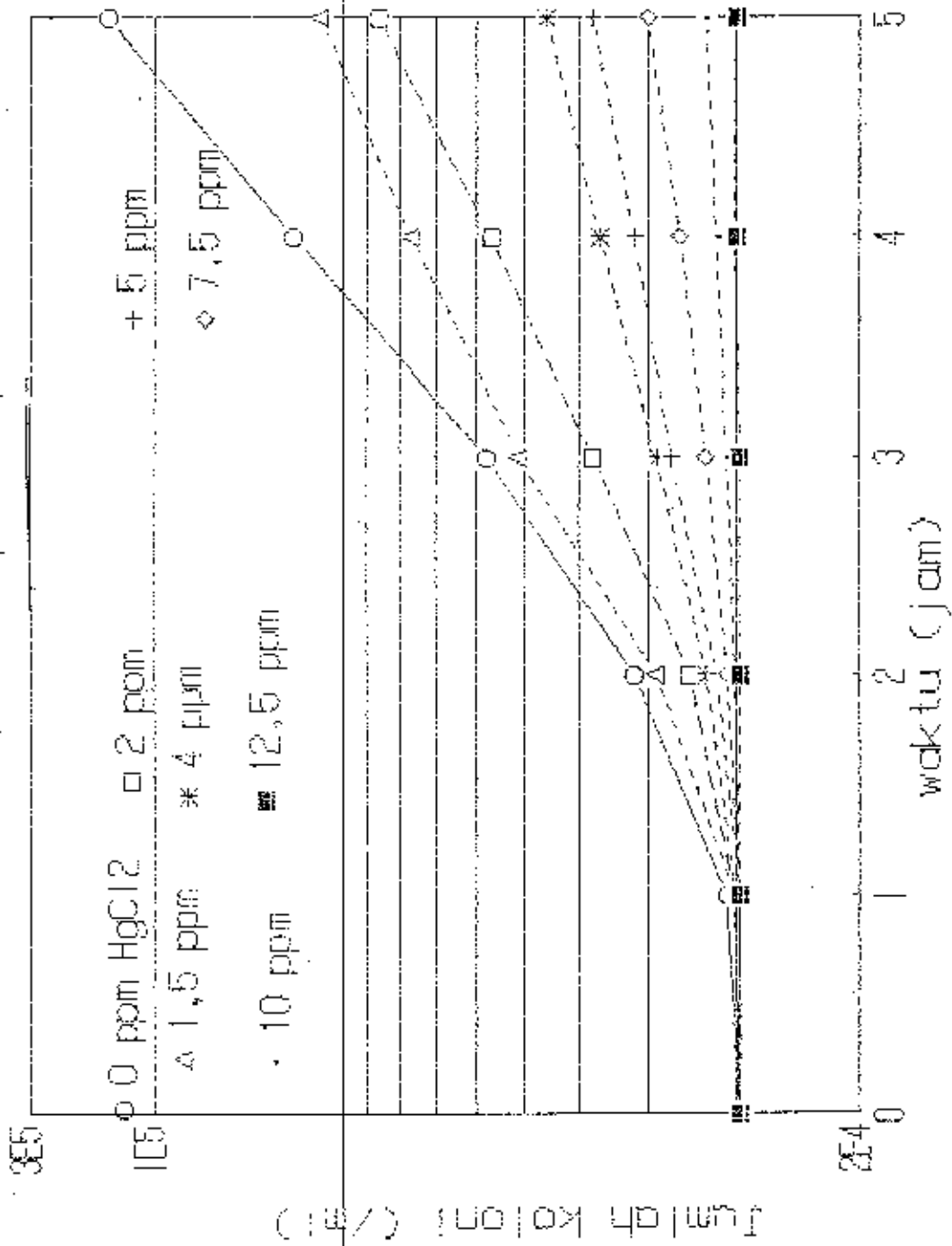


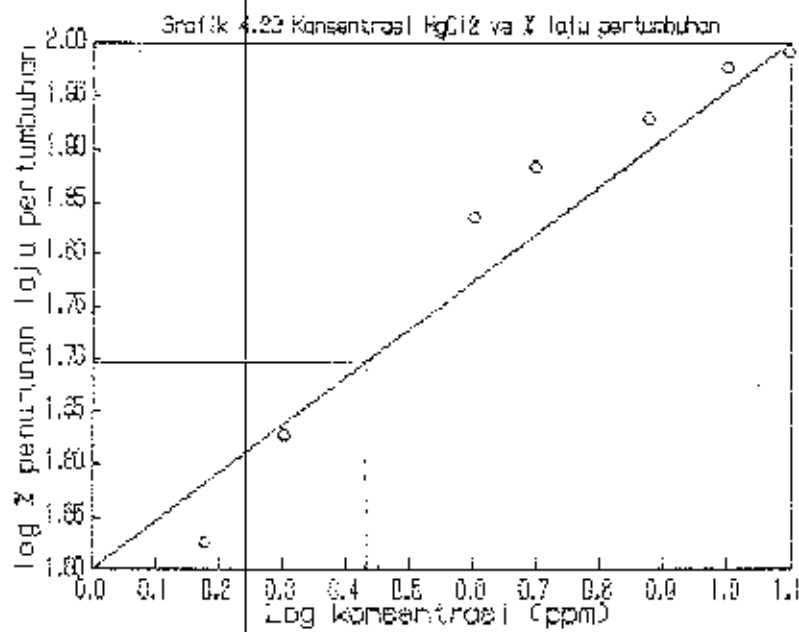
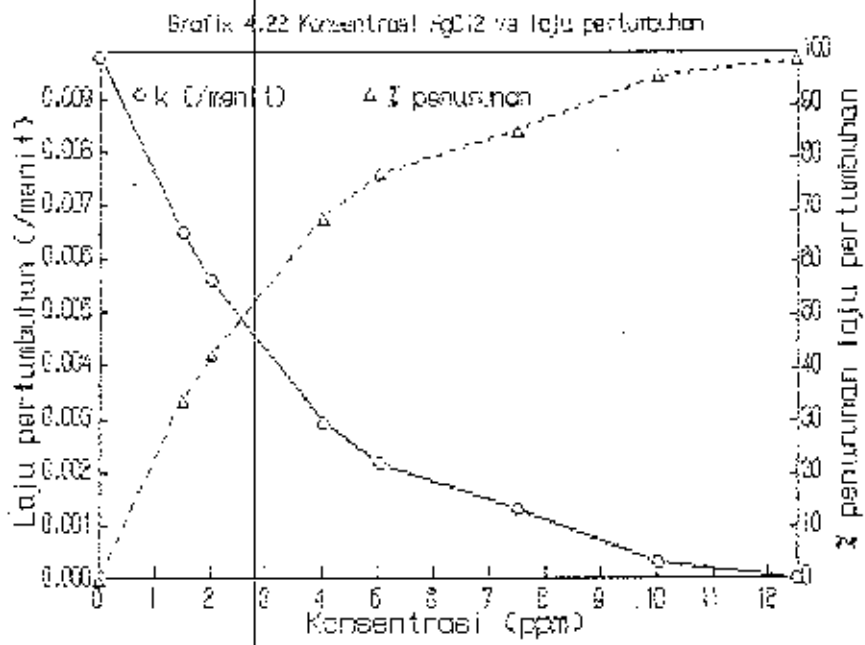
Grafik 4.18 Kurva pertumbuhan sel





Grafik 4.21 Kurva pertumbuhan sel



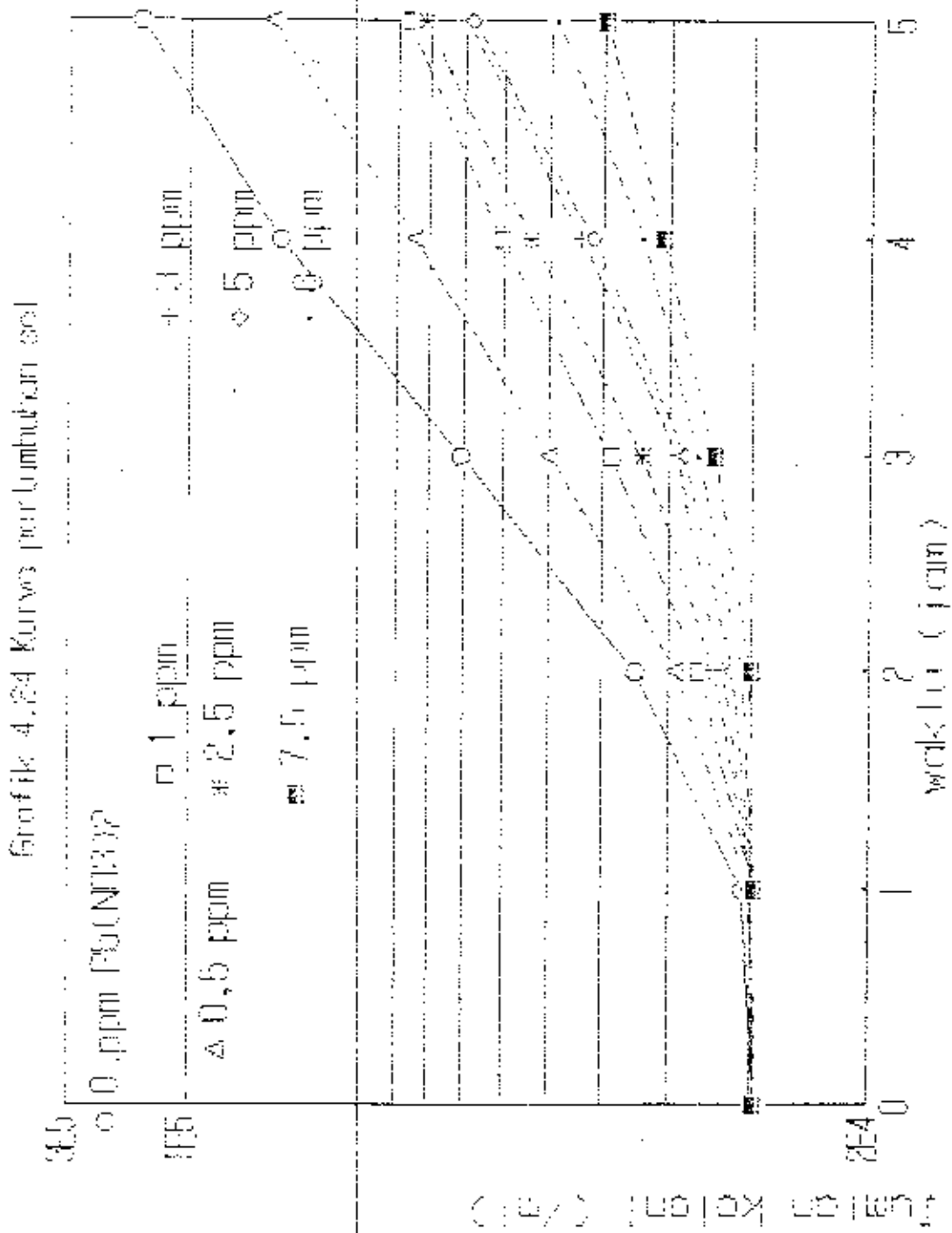


#### 4.4.3 ANALISA PENGARUH $Pb(NO_3)_2$

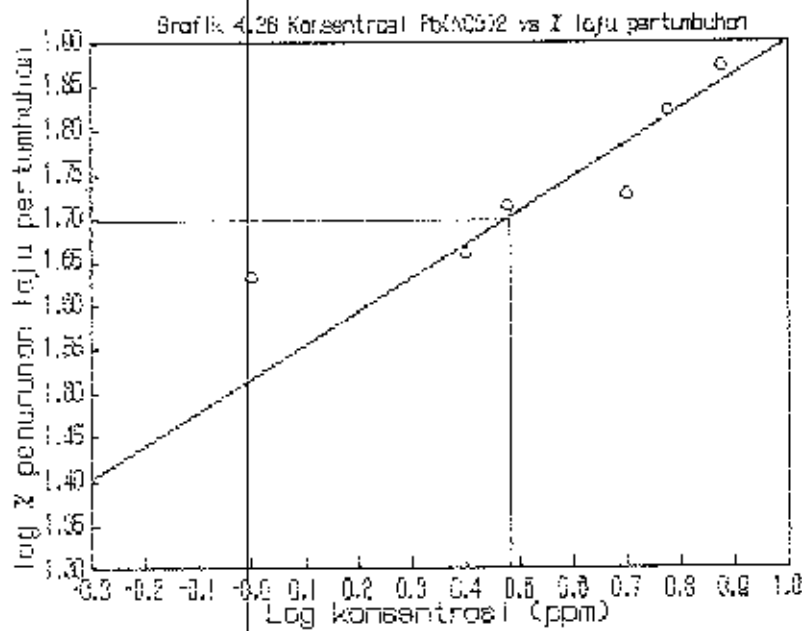
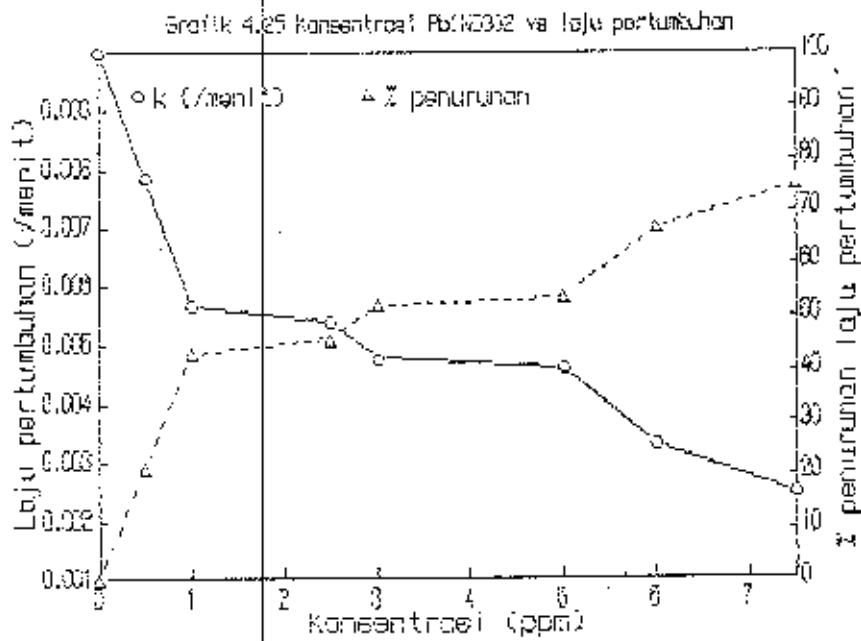
Pengaruh logam timbal terhadap pertumbuhan koloni *S. cerevisiae* sama dengan pengaruh logam Cd dan Hg. Pengaruh terhadap pertumbuhan koloni dan laju pertumbuhan digambarkan pada Grafik 4.25 dan Grafik 4.26. Makin besar konsentrasi yang dipaparkan terhadap sistem maka penurunan pertumbuhan dan laju pertumbuhan akan semakin besar. Penurunan pertumbuhan ini terjadi karena logam timbal yang masuk ke dalam sel berikatan dengan enzim-enzim, sehingga fungsi enzim sebagai katalisator untuk reaksi-reaksi kimiawi di dalam sel mengalami gangguan. Akibatnya metabolisme di dalam sel mengalami gangguan. Sedangkan untuk pertumbuhan sel diperlukan energi yang dihasilkan dari sintesis substrat. Karena proses pembentukan energi mengalami penurunan maka pertumbuhan sel pun mengalami penurunan. Pb pada konsentrasi 3,010 ppm menyebabkan penurunan pertumbuhan sebesar 50%. Konsentrasi ini disebut nilai  $EC_{50}$  Pb terhadap *S. cerevisiae*.

#### 4.4.4 ANALISA PENGARUH $ZnSO_4$

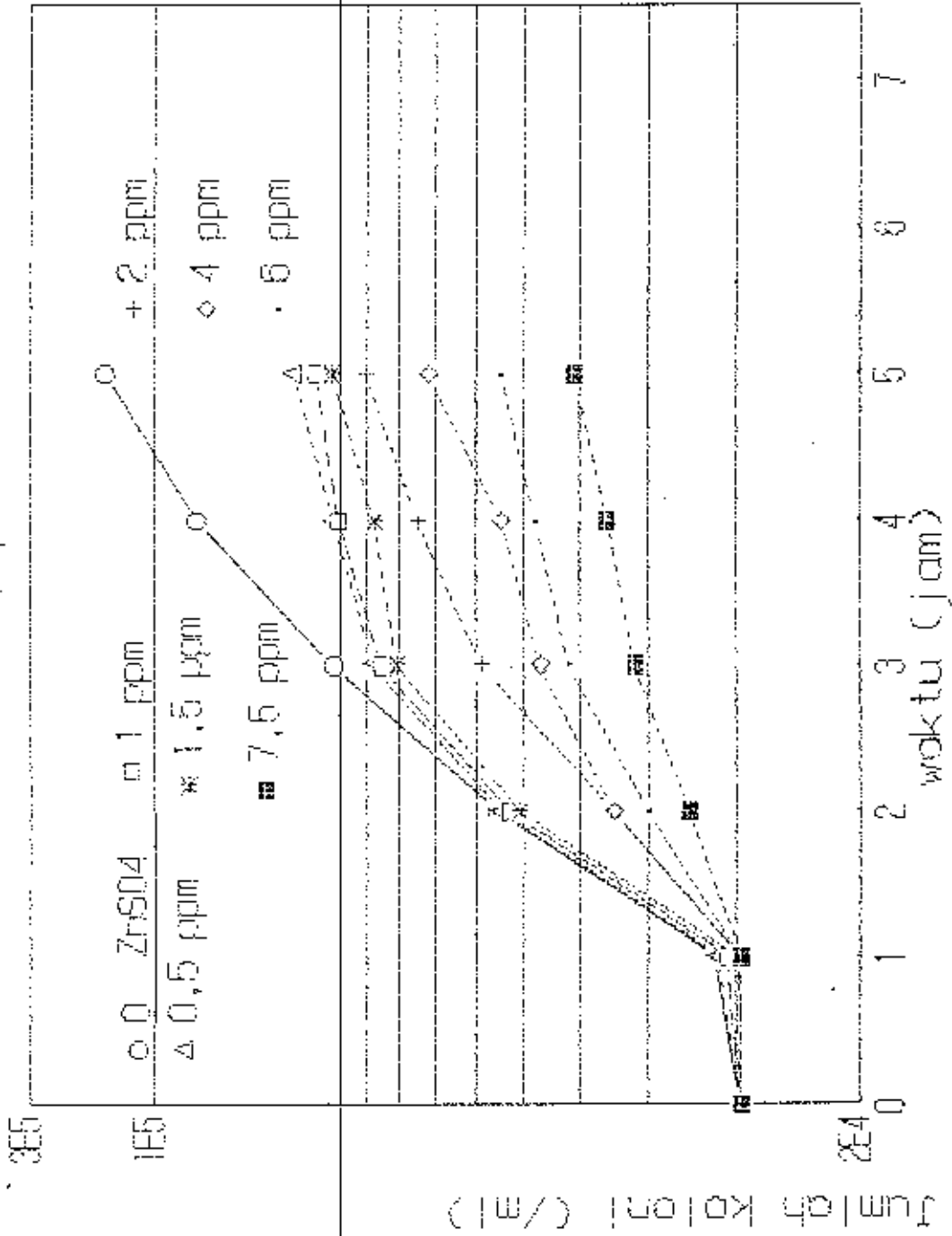
Pengaruh logam Zn terhadap pertumbuhan dan laju pertumbuhan *S. cerevisiae* digambarkan pada Grafik 4.28 dan Grafik 4.29. Penurunan pertumbuhan dan laju pertumbuhan ini disebabkan turunnya energi yang dihasilkan dari sintesis substrat.



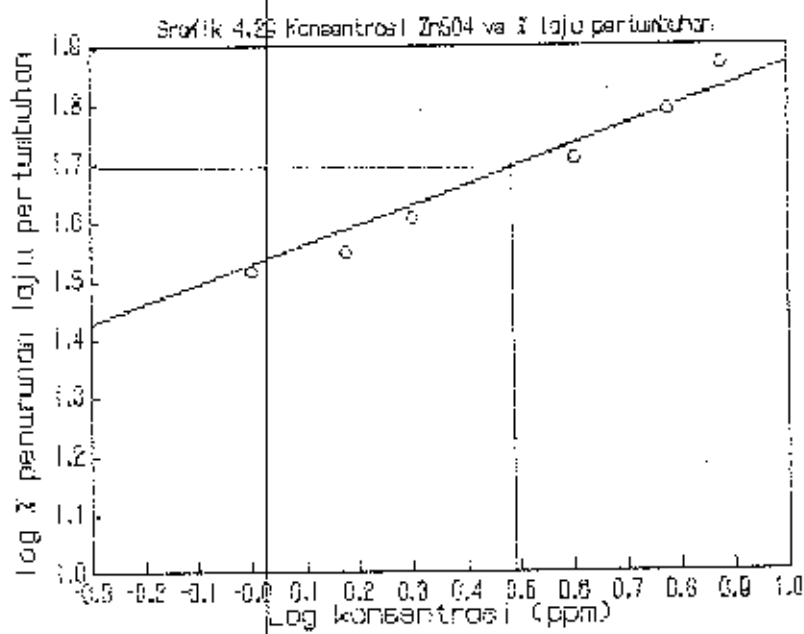
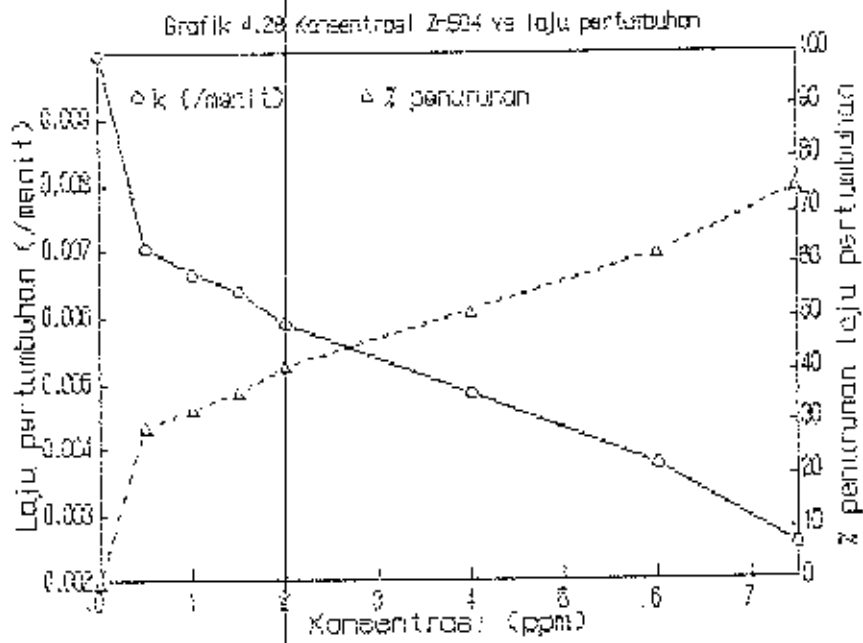
IV-40



Grafik 4.27 Kurva pertumbuhan sel







Makin besar konsentrasi Zn yang dipaparkan maka semakin besar pula penurunan pertumbuhan dan laju pertumbuhan sel. Nilai  $EC_{50}$  Zn terhadap pertumbuhan koloni sel *S. cerevisiae* adalah sebesar 3,020 ppm (Grafik 4.30).

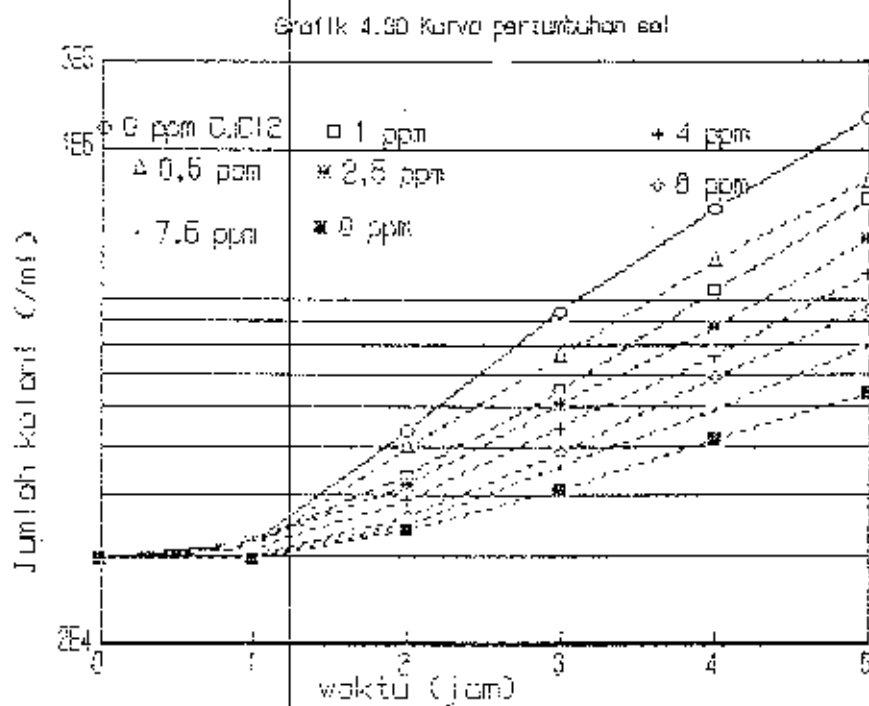
#### 4.4.5 ANALISA PENGARUH $CuCl_2$

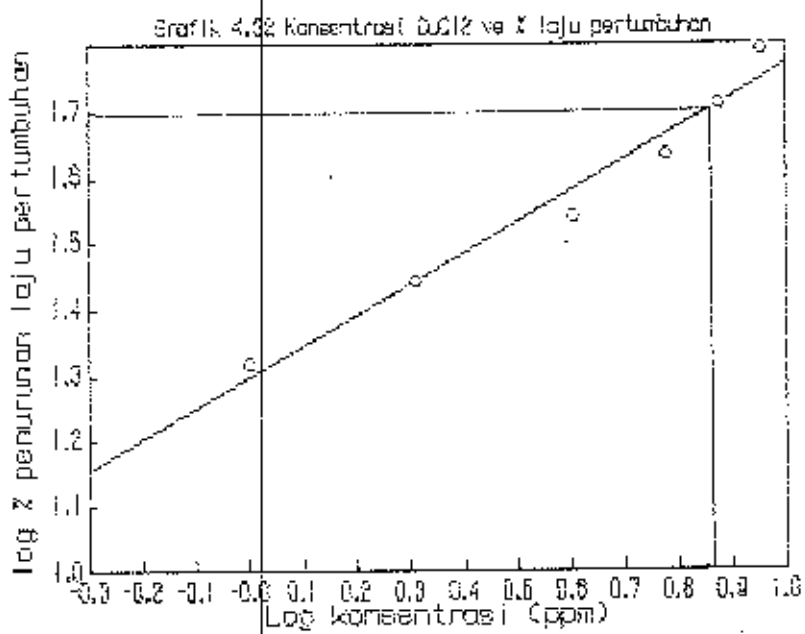
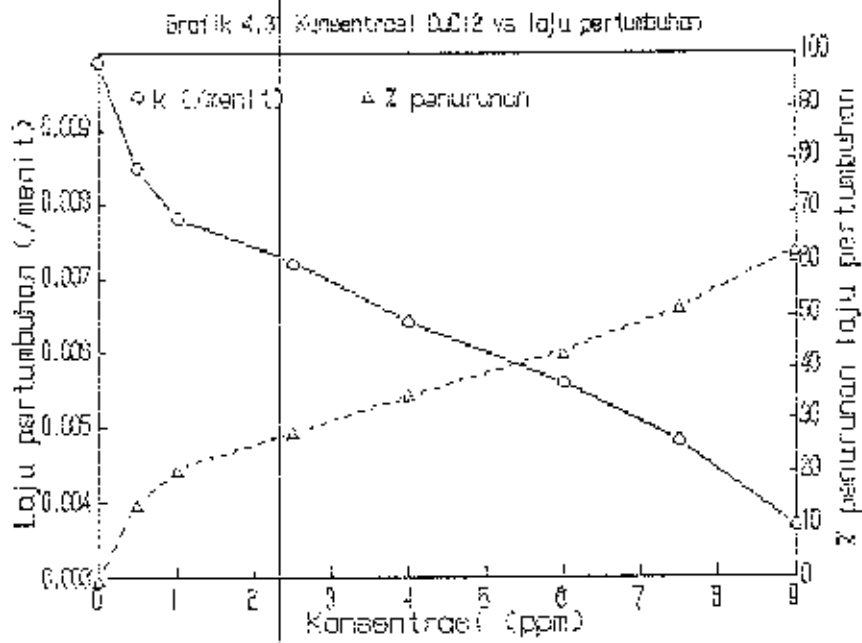
Sifat logam terhadap mikroorganisme umumnya bersifat toksik, baik pada pertumbuhan ataupun pada proses metabolisme yang terjadi di dalam sel. Logam tembaga juga bersifat toksik terhadap *S. cerevisiae*. Pengaruh logam tembaga terhadap pertumbuhan dan laju pertumbuhan sel *S. cerevisiae* digambarkan pada Grafik 4.31 dan 4.32. Dari grafik tersebut terlihat bahwa makin besar konsentrasi logam yang dipaparkan maka penurunan pertumbuhan dan laju pertumbuhan mengalami penurunan. Penurunan pertumbuhan disebabkan karena proses metabolisme di dalam sel terganggu oleh adanya ikatan logam tembaga dengan senyawa protein. Ikatan ini menyebabkan terganggunya proses metabolisme karena enzim tidak dapat menguraikan substrat (glukosa) yang diperlukan untuk sintesa biologis. Nilai  $EC_{50}$  logam Cu adalah 7,240 ppm (Grafik 4.33)

#### 4.4.6 ANALISA PENGARUH LIMBAH KERTAS

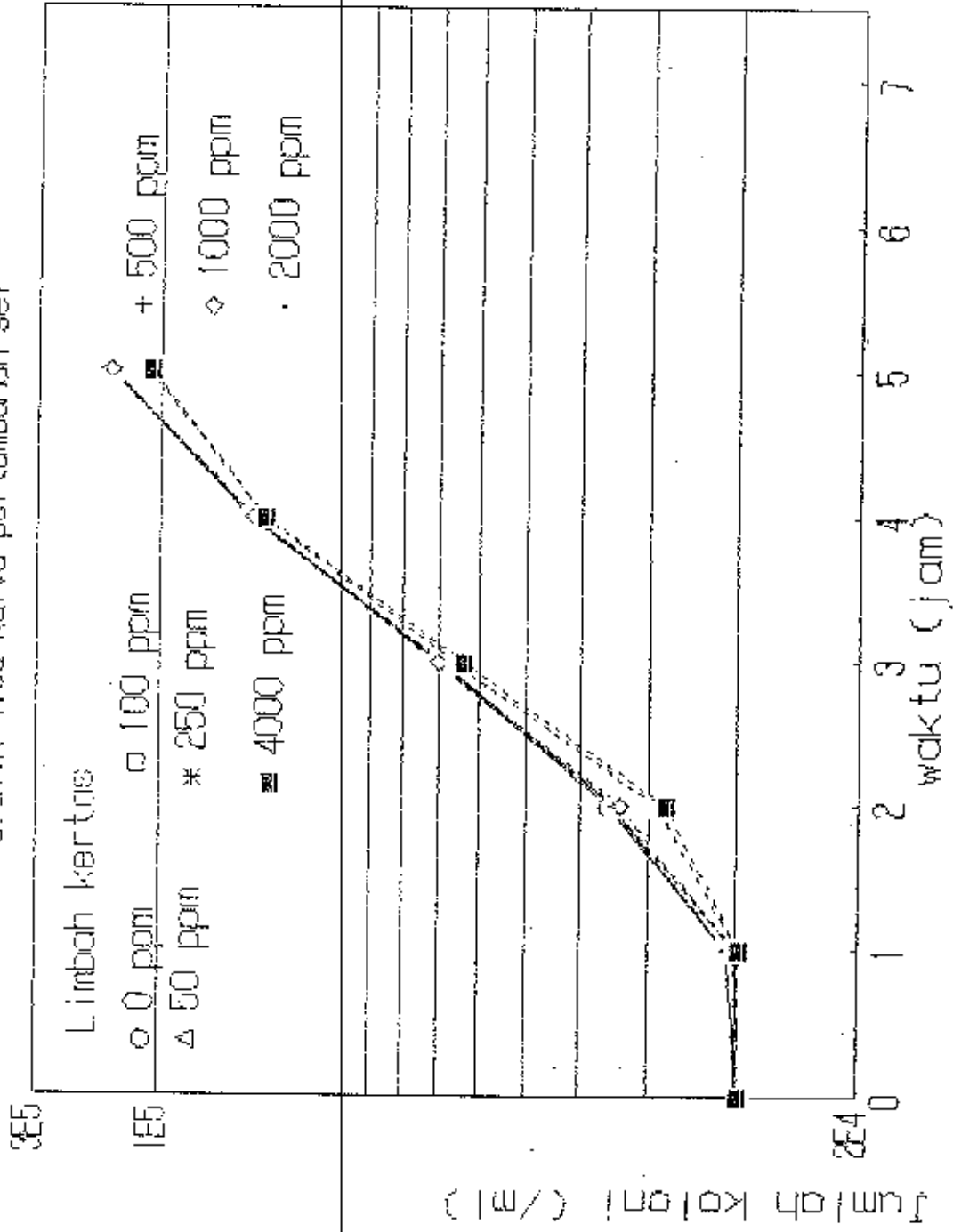
Pengaruh limbah kertas terhadap pertumbuhan dan laju pertumbuhan *S. cerevisiae* tergambar pada Grafik 4.34 dan

Grafik 4.35. Penurunan terjadi pada nilai BOD limbah sebesar 2000 dan 4000 ppm. Penurunan ini terjadi karena pH limbah bersifat basa. Karena komposisi limbah yang terdiri atas selulose tidak mempengaruhi metabolisme sel.

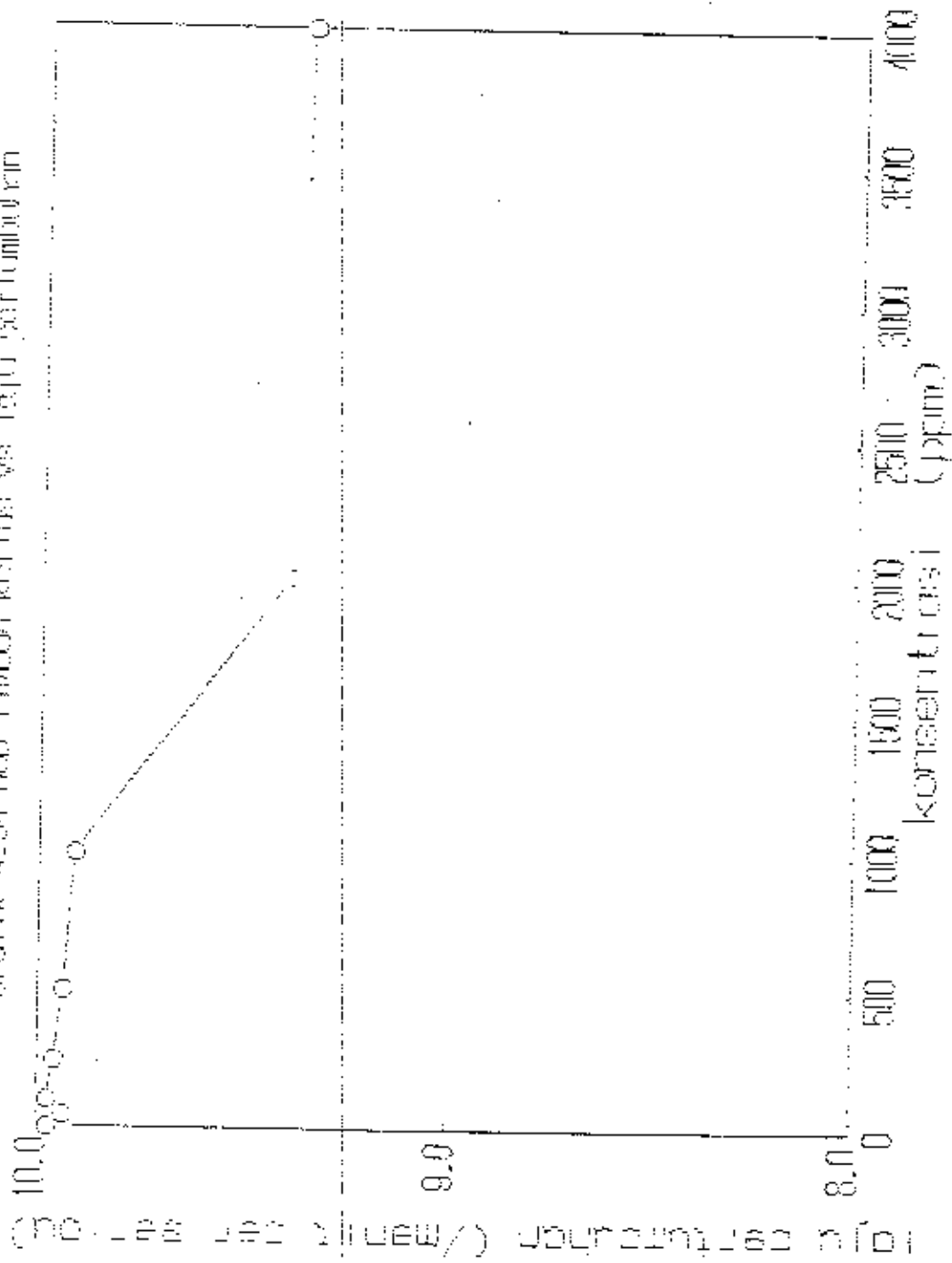




Grafik 4.33 Kurva pertumbuhan sel



Grafik 4.34 FAD Limbah kean dan laju pertumbuhan



## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 4.1 KESIMPULAN

Dengan uji ekotoksikologi yang telah dilakukan sebelumnya dapat disimpulkan bahwa beberapa senyawa logam berat seperti  $\text{CdSO}_4$ ,  $\text{HgCl}_2$ ,  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{ZnSO}_4$ , dan  $\text{CuCl}_2$  bersifat toksik terhadap *S. cerevisiae*. Tingkat toksisitas logam berat tersebut berbeda-beda tergantung pada sifat dan kemampuan logam tersebut menembus dinding sel dan plasma membran serta kemampuan logam untuk berikatan dengan senyawa-senyawa organik yang ada di dalam sel. Meskipun dalam konsentrasi yang kecil, logam berat tersebut mempengaruhi proses fermentasi dan pertumbuhan sel *S. cerevisiae*.

Dari analisa pada bab sebelumnya didapatkan nilai  $\text{EC}_{50, t_{3\text{jam}}}$  logam terhadap proses fermentasi dan  $\text{EC}_{50, t_{5\text{jam}}}$  logam terhadap pertumbuhan *S. cerevisiae*. Adapun  $\text{EC}_{50}$  masing-masing logam berat tersebut seperti pada Tabel 5.1 berikut ini.

Tabel 5.1  $\text{EC}_{50}$  logam berat

Logam	konsentrasi (ppm)	
	fermentasi	pertumbuhan
$\text{CdSO}_4$	1,150	1,170
$\text{HgCl}_2$	2,520	2,684
$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$	2,820	3,010
$\text{ZnSO}_4$	3,270	3,020
$\text{CuCl}_2$	7,080	7,240

### kesimpulan dan saran

Dari Tabel S.1 di atas dapatlah disimpulkan bahwa logam Cd bersifat paling toksik terhadap *S. cerevisiae*. Meskipun logam berat tersebut di atas bersifat toksik terhadap *S. cerevisiae* kondisi ini tidak dapat dipakai untuk menyatakan tingkat pencemaran lingkungan, karena sifat toksik logam berat terhadap masing-masing mikroorganisme berbeda. Untuk menyatakan tingkat pencemaran lingkungan yang disebabkan oleh logam berat, perlu dilakukan uji ekotoksikologi logam berat terhadap komunitas di mana logam tersebut dibuang.

Limbah pengolahan kertas yang diujikan terhadap *S. cerevisiae* berpengaruh terhadap proses fermentasi glukosa dan pertumbuhan sel *S. cerevisiae* pada pH limbah yang bersifat basa, karena selulose yang merupakan unsur paling banyak di dalam limbah tidak mempengaruhi proses fermentasi. Penurunan hasil gas  $CO_2$  dan pertumbuhan koloni cukup kecil dibandingkan dengan pengaruh logam berat terhadap proses fermentasi dan pertumbuhan sel. Meskipun pengaruh limbah pengolahan kertas terhadap *S. cerevisiae* cukup kecil, kondisi ini tidak dapat dipakai untuk menyatakan bahwa limbah kertas tidak mencemari lingkungan. Untuk menyatakan tingkat pencemaran lingkungan yang disebabkan oleh limbah kertas perlu dilakukan uji terhadap komunitas di mana limbah pengolahan kertas tersebut dibuang.



## **V.2 SARAN**

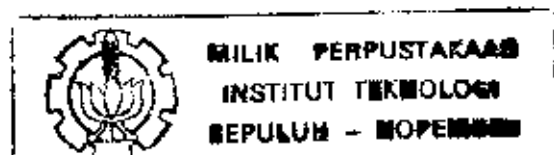
Ruang lingkup uji ekotoksikologi di dalam penyusunan tugas akhir ini cukup terbatas. Uji ekotoksikologi tersebut dapat lebih dikembangkan misalnya dengan menguji perubahan pH, menguji komposisi nutrisi terhadap toksisitas logam berat dan melakukan uji terhadap habitat tanah, yaitu tempat hidup *S. cerevisiae*.

Dengan mengembangkan penelitian di dalam studi ekotoksikologi akan banyak didapatkan pengetahuan mengenai pengaruh toksisitas logam berat atau bahan kimia yang lainnya terhadap sistem biotik. Hasil penelitian tersebut dapat dimanfaatkan untuk studi AMDAL, pengolahan limbah industri, dan lain-lain.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Bacteriology for Sanitary Engineering, D.D. Mara, London, Churchill Livingstone, 1974.
2. Contamination of Aquatic Biocenoses by Mercury Compounds: An Experimental Ecotoxicological Approach, A. Boudou, F. Riadyre, New York, John Wiley, c 1983.
3. Dasar-dasar Mikrobiologi Jilid I, Michael J. Pelczar Jr., E.C.S. Chen, diterjemahkan oleh Dra. Ratna Sini Hadipetomo, Teja Inas, S. Sutarni Tjitrosono, Sri Lestari Angka, Penerbit UI Press, 1988.
4. Ecotoxicological Role of The Membrane Barriers in Transport and Bioaccumulation of Mercury Compounds, A. Boudou, D. Georgescauld dan J.P. Desmazes, New York, John Wiley, c 1983..
5. Ekologi Umum, S.J. Mc Naughton, Larry L. Wolf, Gajah Mada University Press, 1989.
6. Fundamental Principles of Bacteriology, A.J. Salle B.S., M.S., Ph.D., McGraw-Hill Book Company, Inc., edisi ke 5, 1961.
7. General Chemistry Work Book, Piere Smith, San Francisco: H.W. Freeman and Company, 1971.
8. Influence of Chemical Speciation on The Toxicity of Heavy Metals to The Microbiota, M. Babich, G. Stotzky, New York, John Wiley, c 1983.

9. Ilmu Peluang dan Statistika Untuk Insinyur dan Ilmuwan, Ronald E. Walpole, Raymond H. Myers, Penerbit ITB, terbitan ke 2, 1986.
10. Mercury - Environmental Aspect, World Health Organization Geneva, 1989.
11. Microbiology of Extreme Environment, Metal Tolerance, S.X. Gadd, New York, John Wiley, c 1983.
12. Molecular Biology of The Gene, volume 1, James D. Watson et.al., The Benjamin Cumming Publishing Company, Inc., 1987.
13. Lead - Environmental Aspect, World Health Organization Geneva, 1987.
14. Pengantar Mikrobiologi Umum, Drs. Unus Suriawiria, Penerbit Angkasa Bandung, 1986.
15. Principles and Methods for Evaluating the Toxicity of Chemicals, Part I, World Health Organization Geneva, 1987.
16. Principles of Chemistry, Loren G. Hepler et.al., Mac Millan Publishing Co. Inc., London, 1975.
17. Principles of Testing for Potential Biotic Environmental Effects of Chemical, H.J. Hueck, 1978.
18. Standard Methods for Examination Water and Wastewater, 1985.
19. The Textbook of Fungi, J.S. Gupta, Oxford & IBH Publishing Co., India, 1981.



Tabel L.1 AQC dari CO2  
LARUTAN BLANKO

No.	CO2 (ml)
1	252.0
2	251.5
3	249.0
4	249.5
5	248.0
6	251.5
7	252.5
8	252.0
9	250.0
10	247.5
11	250.5
12	250.0
13	250.0
14	249.5
15	247.0
16	248.5
17	246.5
18	248.5
19	251.5
20	251.0
21	251.0
22	252.0
23	252.5
24	250.0
25	250.5
26	251.0
27	251.0
28	249.5
29	249.0
30	249.0

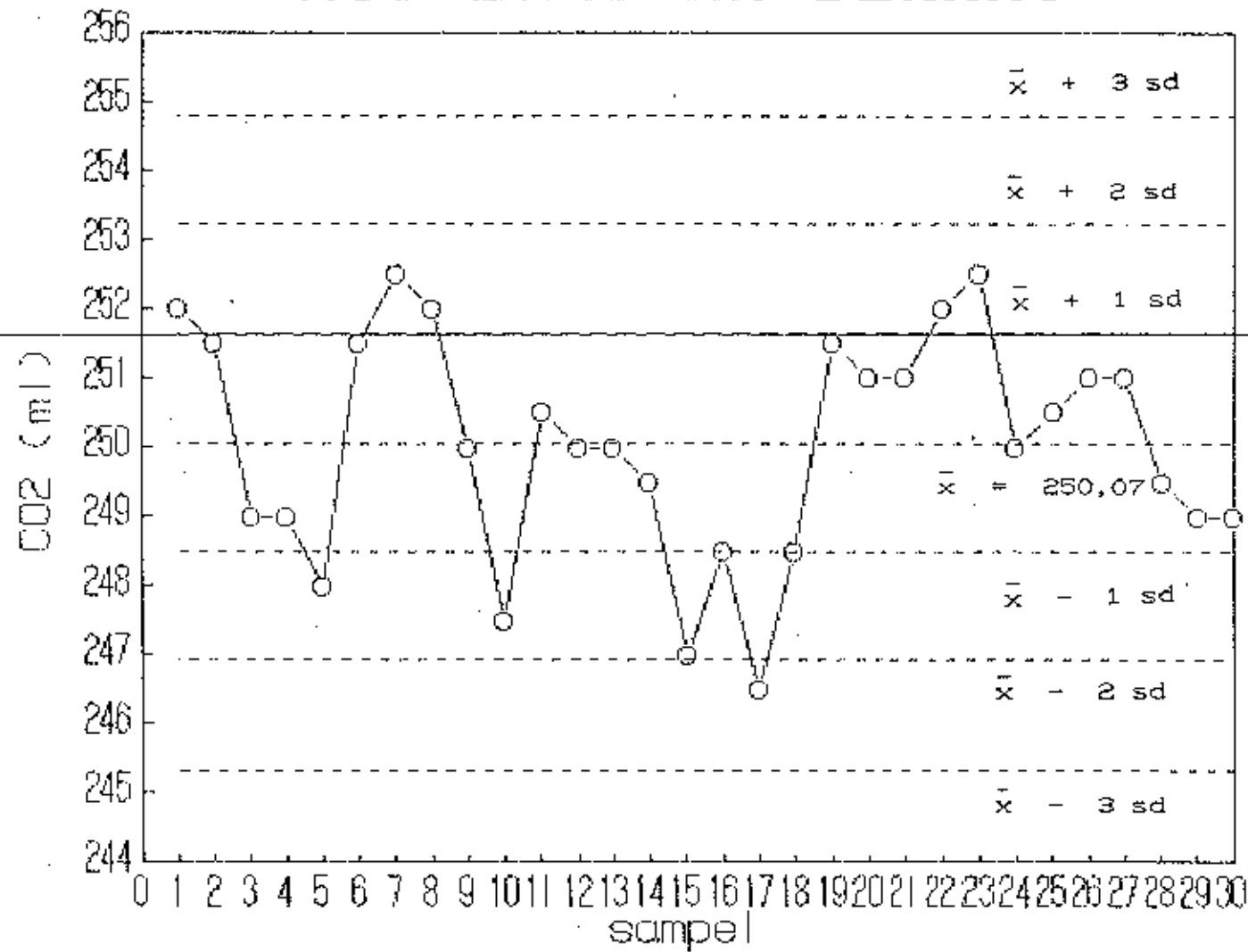
RATA2 = 250.07

SD = 1.58

Tabel L.2 DISTRIBUSI FREKUENSI

No.	CO2 (ml)	JUMLAH
1	246.50	1
2	247.00	1
3	247.50	1
4	248.00	1
5	248.50	2
6	249.00	3
7	249.50	3
8	250.00	4
9	250.50	2
10	251.00	4
11	251.50	3
12	252.00	3
13	252.50	2

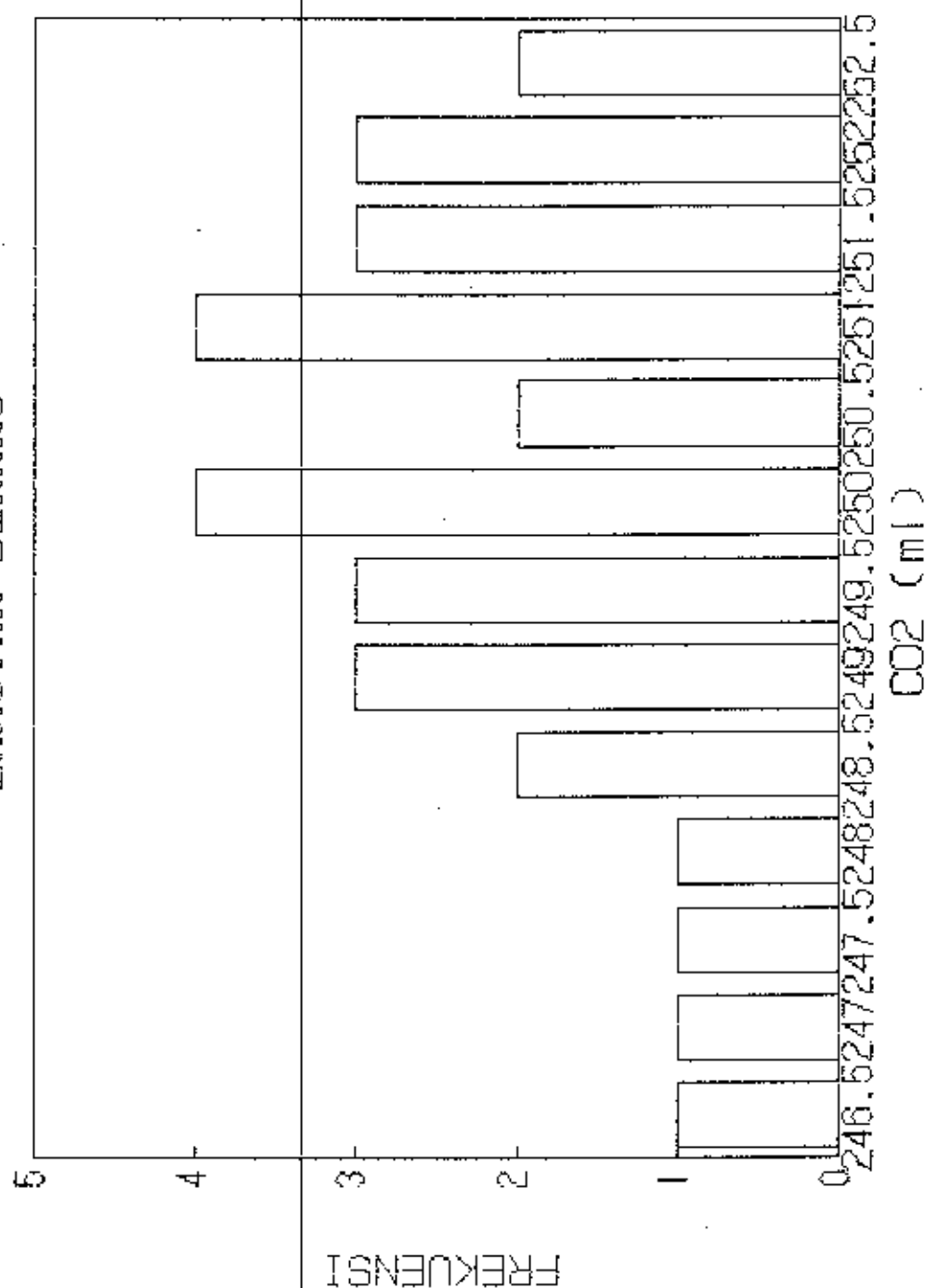
# AQC LARUTAN BLANKO



# DISTRIBUSI FREKUENSI

## LARUTAN BLANKO

lampiran- 3



Tabel L.3 UJI STATISTIK Cd504

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Kons. Gpph	Log (1)	(2) -0.259	(3) -2	(4)	(5)	(6)	(7) -1.178	(8) -2	(9) -2
0.0									
0.5	-0.3010	-0.5506	0.3143	147.5	0.31	-0.4685	-0.2955	0.0373	0.027438
1.0	0.0000	-0.2598	0.0674	142.5	0.43	-0.3565	-0.1935	0.0374	0.002522
1.5	0.1761	-0.6838	0.0070	79.0	0.69	-0.1612	0.0119	0.0601	0.000001
2.0	0.3010	0.6019	0.0012	53.0	0.77	-0.1135	0.0535	0.0635	0.000006
2.5	0.3979	0.1384	0.0191	37.5	0.95	-0.0706	0.1025	0.0195	0.000201
3.5	0.5441	0.2045	0.0809	12.5	0.95	-0.0223	0.1508	0.0327	0.001840
3.6	0.5990	0.4394	0.1931	4.5	0.98	-0.0098	0.1843	0.0270	0.005210
2.0	0.2590	.0000	0.6838		0.63	-0.1730	.0000	0.1636	0.037219

Regression Output:  
 Constant -0.50468  
 Std Err of Y Est 0.050721  
 R Squared 0.931677  
 No. of Observations 7  
 Degrees of Freedom 5

R Coefficient(s) 0.507092  
 Std Err of Coef. 0.061411

Tabel L.4 TABEL ANOVA Cd504

VARIAN	SUMBER	DERAJAT	RATAS	f hitung
	KURUPAT	KESEBASAN	KURUPAT	
RESIDU	0.1316	1	0.1316	11.5413
RESIDU	0.0370	5	0.0714	
TOTAL	0.1686	6		

f tabel = 0.61

Model Regresi nonparametrik

Tabel L.5 UJI STATISTIK HgC12

(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)
kons. log kons. (1)-(4)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1.5	0.1761	-0.5025	0.2525	167.50	0.34	-0.4745	-0.3012	0.0907	0.0229
2.0	0.3010	-0.3276	0.1426	142.50	0.43	-0.3620	-0.1886	0.0356	0.0051
4.0	0.6021	-0.0765	0.0059	79.00	0.69	-0.1634	0.0100	0.0001	.0000
5.0	0.6990	0.0204	0.0004	58.00	0.77	-0.1136	0.0597	0.0036	.0000
7.5	0.8751	0.1365	0.0386	37.50	0.85	-0.0700	0.1034	0.0107	0.0004
10.0	1.0000	0.3214	0.1033	12.50	0.95	-0.0221	0.1512	0.0229	0.0024
12.5	1.0969	0.4183	0.1750	4.50	0.98	-0.0078	0.1655	0.0274	0.0048
6.1	0.6786	.0000	0.7102		0.72	-0.1733	.0000	0.1909	0.0356

Regression Output:  
 Constant -0.51459  
 Std Err of Y Est 0.043112  
 R Squared 0.951325  
 No. of Observations 7  
 Degrees of Freedom 5

X Coefficient(s) 0.502894  
 Std Err of Coef. 0.050871

Tabel L.6 TABEL ANOVA HgC12

VARIASI	SUMBER KUADRAT	DERAJAT KEBEBASAN	KUADRAT	f hitung	f tabel =6.61
REGRESI	0.1133	1	0.0942	7.3097	
RESIDU	0.0776	5	0.0155		
TOTAL	0.1909	7			

Model regresi binar



Tabel L.7 Uji Statistik Parametrik

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Kategori	Log (1)	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6	Q7	Q8	Q9
0.0	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
0.5	-0.3010	-0.2140	0.5109	0.5109	0.5109	0.5109	0.5109	0.5109	0.5109
1.0	0.0000	-0.4130	0.1712	0.1712	0.1712	0.1712	0.1712	0.1712	0.1712
2.5	0.3979	-0.0158	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002
5.0	0.6990	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
6.0	0.7782	0.2644	0.1328	0.1328	0.1328	0.1328	0.1328	0.1328	0.1328
7.0	0.8451	0.4313	0.1861	0.1861	0.1861	0.1861	0.1861	0.1861	0.1861
8.1	0.9138	0.0000	1.0555	1.0555	1.0555	1.0555	1.0555	1.0555	1.0555

Regression Output:

Constant -0.47431

Std Err of Y Est 0.085796

R Squared 0.877558

No. of Observations 7

Degrees of Freedom 5

R Coefficient(s) 0.877572

Std Err of Coef. 0.093122

Tabel L.8 Tabel ANOVA Parametrik

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	hitung
Between	0.1569	1	0.1569	32.1756	
Within	0.0206	5	0.0041		
Total	0.1775	6			

f tabel = 5.81

Model Regresi Memenuhi

Tabel L.9 UJI STATISTIK CuCl2

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
Mean. (ppm)	log (x)	(2)	-0.472	(3)	CO2 (ml)	MI	log (6)	(7)	-0.318	(8)	2	(9)	(10)
0.0													
0.5	-0.3010	-0.7734	0.5981		252.0	0.00							
1.0	0.0000	-0.4723	0.2231		198.0	0.15	-0.8258	-0.3415	0.1168	0.069743			
2.5	0.3979	-0.0744	0.0055		182.0	0.21	-0.5778	-0.1958	0.0382	0.008514			
4.0	0.6021	0.1297	0.0168		164.0	0.28	-0.5836	-0.0794	0.0050	0.000027			
5.0	0.7782	0.3068	0.0635		148.0	0.35	-0.4859	0.0265	0.0007	0.000012			
7.5	0.8781	0.4027	0.1822		128.0	0.43	-0.3888	0.1359	0.0134	0.001256			
9.0	0.9542	0.4819	0.2322		90.0	0.51	-0.2924	0.1909	0.0361	0.005885			
						0.62	-0.2076	0.2746	0.0765	0.017540			
3.8	0.4723	-0.0000	1.3315			0.32	-0.4824	0.0600	0.2858	0.102947			

Regression Output:  
Constant -0.69862  
Std Err of Y Est 0.038189  
R Squared 0.977062  
No. of Observations 6  
Degrees of Freedom 5  
X Coefficient (Co) 0.457764  
Std Err of Coef. 0.024362

Tabel L.10 LABEL ANOVA CuCl2

VARIASI	SUMBER	DERAJAT	RATA-RATA	f hitung
	KURANG	KEBERSIHAN	KURANG	KURANG
REGRESI	0.2182	1	0.1316	9.4957
RESIDU	0.0693	5	0.0139	
TOTAL	0.2875	6		

f tabel = 8.61

Model Regresi memendaki

Tabel L.11 Uji SPSTATISTIK Zns04

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Kons	log (1)	(2)-0.413	(3)*2	002	21	log (6)	(7)-1.318	(8)*2	(4)-(9)
(ppm)				(ml)					
0.0									
0.5	-0.3010	-0.6464	0.4204	177.5	0.00	-0.6220	-0.1206	0.0291	0.012232
1.0	0.0000	-0.3473	0.1706	170.0	0.33	-0.4815	-0.1292	0.0167	0.002013
1.5	0.1761	-0.1712	0.0293	151.5	0.36	-0.4837	-0.0914	0.0064	0.000235
2.0	0.3010	0.0463	0.0021	149.0	0.41	-0.3872	-0.0343	0.0012	0.000003
4.0	0.6021	0.2547	0.0649	124.0	0.51	-0.2924	0.0599	0.0039	0.000253
6.0	0.7782	0.4308	0.1336	95.6	0.62	-0.2076	0.1147	0.0209	0.003886
7.5	0.8751	0.5277	0.2708	86.0	0.74	-0.1308	0.2215	0.0491	0.013067
2.8	0.3473	0.0000	1.1015		0.41	-0.3523	0.0000	0.1290	0.032378

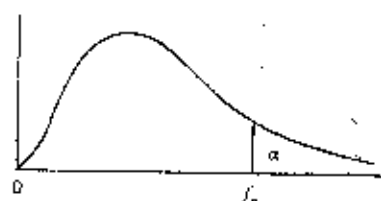
Regression Output:  
 Constant: -0.48810  
 Std Err of Y Est: 0.036112  
 R Squared: 0.949435  
 No. of Observations: 7  
 Degrees of Freedom: 5  
 R Coefficient(s): 0.383400  
 Std Err of Coef.: 0.034469

Tabel L.12 TABEL ANOVA Zns04

UJI TASTI	SUMBER	DERAJAT	RATISRA	f hitung
	KUDURAT	KEBERSIHAN	KUDURAT	
REGRESI	0.1159	1	0.1316	50.0275
RESIDU	0.0132	5	0.0026	
TOTAL	0.1290	6		

f tabel = 6.61

Model Regresi Memenuhi



$f_{\alpha, \nu_1, \nu_2}$

$\nu_2$	$\nu_1$								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	161,4	199,5	215,7	224,6	230,2	234,6	236,8	238,2	240,3
2	18,51	19,00	19,16	19,25	19,30	19,33	19,35	19,37	19,38
3	10,13	9,55	9,28	9,12	9,01	8,94	8,89	8,85	8,81
4	7,71	6,94	6,59	6,39	6,26	6,16	6,09	6,04	6,00
5	6,61	5,79	5,41	5,19	5,05	4,95	4,88	4,82	4,77
6	5,99	5,14	4,76	4,53	4,39	4,28	4,21	4,15	4,10
7	5,59	4,74	4,35	4,12	3,97	3,87	3,79	3,73	3,68
8	5,32	4,46	4,07	3,84	3,69	3,58	3,50	3,44	3,39
9	5,12	4,26	3,86	3,63	3,48	3,37	3,29	3,23	3,18
10	4,96	4,10	3,71	3,48	3,33	3,22	3,14	3,07	3,02
11	4,84	3,98	3,59	3,36	3,20	3,09	3,01	2,95	2,90
12	4,75	3,89	3,49	3,26	3,11	3,00	2,91	2,85	2,80
13	4,67	3,81	3,41	3,18	3,03	2,92	2,83	2,77	2,71
14	4,60	3,74	3,34	3,11	2,96	2,85	2,76	2,70	2,65
15	4,54	3,68	3,29	3,06	2,90	2,79	2,71	2,64	2,59
16	4,49	3,63	3,24	3,01	2,85	2,74	2,66	2,59	2,54
17	4,45	3,59	3,20	2,96	2,81	2,70	2,61	2,55	2,49
18	4,41	3,55	3,16	2,93	2,77	2,66	2,58	2,51	2,46
19	4,38	3,52	3,13	2,90	2,74	2,63	2,54	2,48	2,42
20	4,35	3,49	3,10	2,87	2,71	2,60	2,51	2,45	2,39
21	4,32	3,47	3,07	2,84	2,68	2,57	2,49	2,42	2,37
22	4,30	3,44	3,05	2,82	2,66	2,55	2,46	2,40	2,34
23	4,28	3,42	3,03	2,80	2,64	2,53	2,44	2,37	2,32
24	4,26	3,40	3,01	2,78	2,62	2,51	2,42	2,36	2,30
25	4,24	3,39	2,99	2,76	2,60	2,49	2,40	2,34	2,28
26	4,23	3,37	2,98	2,74	2,59	2,47	2,39	2,32	2,27
27	4,21	3,35	2,96	2,73	2,57	2,46	2,37	2,31	2,25
28	4,20	3,34	2,95	2,71	2,56	2,45	2,36	2,29	2,24
29	4,18	3,33	2,93	2,70	2,55	2,43	2,35	2,28	2,22
30	4,17	3,32	2,92	2,69	2,53	2,42	2,33	2,27	2,21
40	4,08	3,23	2,84	2,61	2,45	2,34	2,25	2,18	2,12
60	4,00	3,15	2,76	2,53	2,37	2,25	2,17	2,10	2,04
120	3,92	3,07	2,68	2,45	2,29	2,17	2,09	2,02	1,96
$\infty$	3,84	3,00	2,60	2,37	2,21	2,10	2,01	1,94	1,88

† Disalin dari Tabel 18 *Biometrika Tables for Statisticians*, Jilid I seizin E. S. Pearson dan Biometrika Trustees.